

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

**SYNTHÈSE DE FRAGMENTS OLIGOSACCHARIDIQUES ENGAGÉS DANS LE  
DÉVELOPPEMENT D'UN VACCIN CONTRE *BURKHOLDERIA CEPACIA*  
IMPLIQUÉ DANS LA FIBROSE KYSTIQUE**

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAÎTRISE ÈS SCIENCES EN CHIMIE

PAR

SONIA DAMERVAL

JANVIER 2009

# UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

Service des bibliothèques

## Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.01-2006). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement n°8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier vivement le Professeur René Roy, pour m'avoir accueillie dans son laboratoire. Il m'a permis d'exercer avec la plus grande liberté mes idées et n'a jamais refréné la créativité. Dans les moments de doute ou « d'écoeurite » pour reprendre ses paroles, il a été un soutien moral important, sans douter de mon travail ni de mes compétences, il a su faire preuve d'écoute et d'empathie. Je le remercie également de m'avoir accordé la chance et sa confiance pour encadrer mon stagiaire Jérémy.

Je remercie également le Dr. Régis Fauré, qui a été mon maître Yoda de la chimie des sucres. Je lui serais éternellement reconnaissante de sa patience, son sens de l'équité et sa droiture.

Chichi, toi qui n'a jamais épargné ton temps pour répondre à mes questions, prodigués des conseils ou me relancer dans des voies différentes quand mon enthousiasme s'est tari. Merci pour tout, compagnon de hotte. Je t'ai fait désespérer par mon désordre, mais je suis tout de même beaucoup plus organisée qu'au début et grâce à toi, j'ai appris les trucs « des magiciens sucriers » !

Virginie, pour ton amitié, compagne d'infortune, mais tout de même, bien plus que cela, « petite sœur ». Merci pour ton partage d'info (scientifique ou culinaire), ton écoute, des fous rires. J'ai hâte de te revoir en France.

Christine, « ma grande sœur », chaleur provençale au cœur de la froidure québécoise. Tu as su en si peu de temps réveiller l'esprit du laboratoire. J'ai tant reçu de ta part... Tu m'as montré que la remise en question professionnelle, que la recherche de l'amélioration et de la connaissance sont à tout âge d'actualité. Tu m'as montré un visage très « humain » de la recherche.

Cyrille, pour ton soutien amical et scientifique, durant nos périodes de collaboration au cours de chimie. Avec ton aide, j'ai pu voir que oui, c'est possible pour moi aussi, d'enseigner la chimie organique. Pour ton amitié avec Carine, qui s'est développée sur le tard mais que je garde précieusement.

Pour vous tous, au laboratoire, votre entrain, votre musique... Jacques, François, Sylvain, Alex, Julien, Denis, Yohann, Philippe, Mo, Amira et enfin et non les moindres, mes

nouveaux compagnons de paillasse, Steve et Subbash, un grand merci d'avoir partagé votre culture québécoise ou autre.

Je tiens à remercier également l'UQAM pour son soutien financier, le département de chimie de l'UQAM, le secrétariat qui a toujours su débrouiller ma situation d'étudiante étrangère pas toujours évidente d'un point de vue administratif, le personnel technique, pour leur disponibilité.

Tout particulièrement, Mme Hoa Le Tan qui s'est portée souvent à mon secours quand la RMN faisait des siennes et Pr. Benoît Marsan, pour sa bienveillance et son écoute.

Enfin, les plus chers à mon cœur, car sans eux, jamais tout cela n'aurait pu se faire. Ma famille. Maman, Papa, mon petit frère (plus si petit) Skander, ma grand-mère et surtout toi Eric. Présents ou lointains, vous avez tous toujours eu une foi inébranlable en moi. Votre amour est ce qui a maintenu un équilibre « chimique » en moi et qui m'a littéralement porté. Eric pour tous ces moments d'écoute patiente, à vider mon sac, à endurer mes obnubilations, merci ; pour avoir traversé l'océan avec moi ou pour moi, merci.

Même si vous ne compreniez rien ou si peu à mon travail, vous avez toujours voulu savoir, comprendre et si je peux en parler si simplement c'est grâce à vous. Je vous aime.

Merci à vous tous. Ces trois ans au Québec ont été riches en enseignements. Je me sens maintenant prête à affronter le monde du travail...

## TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES .....	vii
LISTE DES TABLEAUX .....	ix
LISTE DES SCHÉMAS .....	x
LISTE DES ABRÉVIATIONS .....	xiii
RÉSUMÉ .....	xxvi
CHAPITRE I .....	1
INTRODUCTION .....	1
1.1 AVANT-PROPOS .....	1
1.2 VACCINS vs ANTIBIOTIQUES .....	1
1.3 SYSTÈME IMMUNITAIRE .....	4
1.4 T-CELL ÉPITOPES .....	7
1.5 IMPORTANCE DES CARBOHYDRATES .....	9
1.6 VACCINS SEMI-SYNTHÉTIQUES .....	10
1.7 OBJECTIFS .....	11
CHAPITRE II .....	12
FIBROSE KYSTIQUE .....	12
2.1 HISTORIQUE .....	12
2.2 DÉFI ACTUEL : IMMUNO – BIOCHIMIE .....	16
2.3 LA CIBLE : BURKHOLDERIA CEPACIA .....	20
2.4 LES EXOPOLYSACCHARIDES .....	21

CHAPITRE III .....	25
SYNTHÈSE DES FRAGMENTS CIBLES .....	25
3.1 INTRODUCTION .....	25
3.3.1 Effet anomérique et anchimérique .....	25
3.3.2 Glycosidation comme première protection anomérique .....	27
3.3.3 Principaux donneurs utilisés lors de la glycosylation .....	30
3.2 ANALYSE RÉTROSYNTHÉTIQUE .....	32
3.3 SYNTHÈSE DE RÉSIDUS D-GALACTOPYRANOSIDES .....	37
3.4 SYNTHÈSE DE RÉSIDUS D-GLUCOPYRANOSIDES .....	41
3.5 CONVERSION DE D-GLUCOPYRANOSIDE EN ACIDE D-GLUCURONIQUE .....	53
3.6 SYNTHÈSE DE RÉSIDUS D-MANNOPYRANOSIDES .....	59
3.7 SYNTHÈSE DE RÉSIDUS D-RHAMNOPYRANOSIDES .....	62
3.7.1 Synthèse de rhamnosides accepteurs .....	62
3.7.2 Synthèse de rhamnoside donneur .....	73
3.7.3 Problèmes stratégiques du rhamnose .....	74
3.7.4 Étude d'une réaction de transglycosylation .....	76
CHAPITRE IV .....	81
ASSEMBLAGE SACCHARIDIQUES .....	81
4.1 INTRODUCTION .....	81
4.2 STRATÉGIE .....	83
4.2.1 Synthèse de trisaccharide mineur .....	83
4.2.2 Synthèse de trisaccharide majeur .....	88
4.2.3 Vers un pentasaccharide .....	88
4.3 STRATÉGIE DE LA SYNTHÈSE VERS COMPLEXE B CEPACIA .....	90
4.3.1 Synthèse de laminaribiose .....	90
4.3.2 Synthèse de disaccharides .....	91
4.3.3 Mannose vs Rhamnose .....	93

CHAPITRE V .....	95
CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PERPESPECTIVES .....	95
5.1 CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PERPESPECTIVES .....	95
5.2 LISTE DE PUBLICATIONS .....	96
CHAPITRE VI .....	97
PARTIE EXPÉRIMENTALE .....	97
6.1 GÉNÉRALITÉ .....	97
6.1.1 Solvants .....	97
6.1.2 Chromatographies .....	97
6.1.3 Analyse physico-chimiques .....	98
7.1.3.1 Généralités .....	98
7.1.3.2 Spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) .....	98
6.2 PROTOCOLES GÉNÉRAUX .....	100
6.2.1 Protocole A : Transestérification ou de-O-acétylation par le méthanolate de sodium ou « Zemplén » .....	100
6.2.2 Protocole B : Glycosidation de Fischer appliquée au réacteur micro-onde .....	101
6.3 MODES OPÉRATOIRES ET CARACTÉRISATIONS .....	101
ANNEXES .....	102

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Structure générale d'un anticorps.....	6
<b>Figure 2</b> : Différents types d'interactions entre les trois domaines biopolymères.....	9
<b>Figure 3</b> : Evolution de l'espérance de vie des personnes atteintes de FK (1960-2002) <sup>1</sup> .....	12
<b>Figure 4</b> : <b>A)</b> Localisation du gène codant pour la protéine CFTR sur le Chr. 7 impliqué dans la FK. <b>B)</b> Délétion $\Delta F508$ sur le gène. <sup>6</sup> .....	13
<b>Figure 5</b> : <b>A)</b> Protéine transmembranaire canal à ion $Cl^-$ (CFTR) normale. <sup>8</sup> <b>B)</b> Protéine CFTR mutée disfonctionnelle.....	14
<b>Figure 6</b> : Biofilm observé chez les patients atteint de la fibrose kystique.....	15
<b>Figure 7</b> : Quatre types de bactéries responsables de la formation du biofilm impliquées dans la fibrose kystique.....	16
<b>Figure 8</b> : <b>A)</b> Structure du NBD1 du CFTR; <b>B et C)</b> Structure du site actif de Phe-508 dans NBD1 de CFTR : hNBD1 - $\Delta F508$ <sup>7</sup> .....	17
<b>Figure 9</b> : <b>A)</b> Modèle proposé de la régularisation de CFTR avec médiateur MUC4 <i>via</i> le mécanisme transcriptionnel et post-translationnel au cancer pancréatique; <b>B)</b> modèle de la protéine sécrétoire normale et mutée dans ER; <b>C)</b> schéma représentatif de la protéine.....	18



<b>Figure 10 :</b> A) Structure cristalline du domaine Humain NDB1- DF508 complexé avec son ligand ATP et MG (PUBsum); B) l'interaction hydrophobe de ce ligand dans le site actif de cette protéine membranaire (PDB : 1XMJ). .....	19
<b>Figure 11 :</b> A) Scan de <i>B. cepacia</i> au microscope électronique. B) Pourriture du bulbe (gauche) d'oignon par <i>B. cepacia</i> . C) Biofilm et pili de <i>B. cepacia</i> dans les poumons des sujets atteints de FK.....	21
<b>Figure 12 :</b> Modélisation moléculaire du motif de répétition du Cepacian. ....	22
<b>Figure 13 :</b> Comportement des dipôles soumis à un champ électrique.....	29
<b>Figure 14 :</b> Difficultés synthétiques du motif de répétition du Cepacian. A) Motif heptasaccharidique initial. B) Cible synthétique après analyse conformationnelle.....	33
<b>Figure 15 :</b> Proximité spatiale de fragments saccharidiques du Cepacian.....	34
<b>Figure 16 :</b> Evaluation des contraintes stratégiques liées à la synthèse du trisaccharide central du Cepacian .....	46
<b>Figure 17 :</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C du rhamnoside d'allyle.....	77
<b>Figure 18 :</b> Contraintes stratégiques associées à la synthèse du trisaccharide $\alpha$ -D-Rhap-(1→4)- $\alpha$ -D-Galp-(1→3)- $\alpha$ -D-Rhap .....	85

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1 :</b> Influence des effets anomériques et anchimériques sur la formation de lien de glycosidation.....	27
<b>Tableau 2 :</b> Illustration de l'effet "armed-disarmed" .....	32
<b>Tableau 3 :</b> Différents types de donneurs avec des promoteurs correspondants. ....	83
<b>Tableau 4 :</b> Conditions usuelles d'ouverture régiosélective des benzylidènes.....	87
<b>Tableau 5 :</b> Résultats de glycosylation avec différents mannosides accepteurs .....	94

## LISTE DES SCHÉMAS

<b>Schéma 1</b> : Assistance anchimérique dans les séries Manno et Gluco .....	26
<b>Schéma 2</b> : Equilibre des produits de la glycosidation de Fischer.....	30
<b>Schéma 3</b> : Versatilité des donneurs utilisés dans la chimie des sucres.....	31
<b>Schéma 4</b> : Analyse rétrosynthétique de l'heptasaccharide du Cepacian .....	35
<b>Schéma 5</b> : Analyse rétrosynthétique des dérivés de l'acide D-glucuronique orthogonalement protégés .....	36
<b>Schéma 6</b> : Analyse rétrosynthétique pour l'obtention du motif $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -D-Rhap .....	37
<b>Schéma 7</b> : Stratégie de convergence par glycosylations simultanées.....	38
<b>Schéma 8</b> : Synthèse du donneur D-galactoside de type trichloroacétimide. ....	39
<b>Schéma 9</b> : Synthèse du 2,3-di-O-benzoyl-4,6-benzylidène- $\alpha$ -D-galactopyranoside de thiophényle 34 .....	41
<b>Schéma 10</b> : Galactosides donneurs.....	42
<b>Schéma 11</b> : Synthèse du glucoside accepteur.....	43
<b>Schéma 12</b> : Synthèse du glucoside donneur .....	47
<b>Schéma 13</b> : Mécanisme de déallylation par le tétrakis triphénylphosphine de Pd .....	49
<b>Schéma 14</b> : Essais de synthèse de l'accepteur glucosidique en O-2 .....	50
<b>Schéma 15</b> : Essais de synthèse de l'accepteur 2-O-benzyl-glucosidique en O-3.....	51

<b>Schéma 16</b> : Essais de synthèse de l'accepteur 2-O-pMB-glucosidique en O-3 .....	52
<b>Schéma 17</b> : Synthèse d'accepteurs glucosidiques en O-2 .....	52
<b>Schéma 18</b> : Stratégie de synthèse alternative du trisaccharide central du Cepacian .....	53
<b>Schéma 19</b> : Synthèse du dérivé de l'acide D-glucuronique <b>18</b> .....	54
<b>Schéma 20</b> : Mécanisme d'oxydation proposé de l'alcool primaire en position 6 par le radical TEMPO .....	58
<b>Schéma 21</b> : Allylation du mannopyranose par la glycosidation de Fischer .....	60
<b>Schéma 22</b> : Synthèse du mannoside accepteur .....	61
<b>Schéma 23</b> : Préparation du groupement protecteur levulinate. ....	62
<b>Schéma 24</b> : Mécanisme de la déprotection du lévulinate. ....	63
<b>Schéma 25</b> : Synthèse d'accepteurs rhamnosides en O-2 .....	64
<b>Schéma 26</b> : Mécanisme d'iodation de la position 6 .....	66
<b>Schéma 27</b> : Mécanisme radicalaire de réduction de la position 6 .....	67
<b>Schéma 28</b> : Mécanisme de la protection des positions 3 et 4 sous forme de bis-acétal. ....	67
<b>Schéma 29</b> : Acétalisation de la 2,3-butadione .....	69
<b>Schéma 30</b> : Mécanisme de déprotection du lévulynate .....	70
<b>Schéma 31</b> : Synthèse du rhamnoside accepteur <b>55</b> .....	71
<b>Schéma 32</b> : Mécanisme de la protection par un silyle .....	71
<b>Schéma 33</b> : Synthèse du rhamnoside accepteur .....	73
<b>Schéma 34</b> : Synthèse du rhamnoside donneur <b>52</b> .....	74

<b>Schéma 35</b> : Essai de réduction simultanée .....	76
<b>Schéma 36</b> : Synthèse du rhamnoside d'allyle .....	77
<b>Schéma 37</b> : Essais de transglycosidation.....	78
<b>Schéma 38</b> : Mécanisme de la réaction de transglycosidation.....	79
<b>Schéma 39</b> : Synthèse du 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -benzyl- $\alpha$ -D-mannopyranside de <i>p</i> -méthoxyphényle .....	80
<b>Schéma 40</b> : Synthèse récapitulative du trisaccharide <b>70</b> .....	84
<b>Schéma 41</b> : Mécanisme de glycosylation en présence de donneur thiolé .....	86
<b>Schéma 42</b> : Mécanisme général d'ouverture régiosélective des benzylidènes .....	87
<b>Schéma 43</b> : Mécanisme de glycosylation impliquant un imidate donneur.....	90
<b>Schéma 44</b> : Résultats des glycosylations avec divers rhamnosides accepteurs.....	91
<b>Schéma 45</b> : Protection régiosélective par un benzylidène de mannopyranoside.....	93

## LISTE DES ABREVIATIONS

### A

Å	Angstrom
$\alpha$	Alpha
Abs	Absorbance
Ac	Acétyle
Ac. asc.	Acide ascorbique
Ac <sub>2</sub> O	Anhydride acétique
AcCl	Chlorure d'acétyle
ACN	Acétonitrile
Acm	Acétamidométhyle
AcOEt	Acétate d'éthyle
ADN	Acide désoxyribonucléique
AIBN	Azobisisobutyronitrile
AlBr	Bromure d'allyle
APT	Attached Proton Test
Arg	Arginine
arom.	Aromatique
Asp	Aspartate
Asn	Asparagine

ATP	Adénosine-5'-TriPhosphate
ATPase	Adénosine-5'-TriPhosphatase
<b>B</b>	
$\beta$	Béta
<i>B. capacia</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>
<i>B. cepacian</i>	<i>Burkholderia cepacian</i>
BAIB	bisacétoxyiodobenzène
BF <sub>3</sub> .Et <sub>2</sub> O	Étherate de trifluorure de bore
Bn	Benzyle
BnBr	Bromure de benzyle
Boc	<i>t</i> - ButOxyCarbonyle
BOP	Benzotriazol-1-yloxytris(diméthylamino)phosphonium hexafluorophosphate
BSP	1-Benzenesulfınyl pipéridine
<sup>t</sup> BuOH	<i>tert</i> -Butanol
<sup>t</sup> Bu	<i>tert</i> -Butyle
Bu <sub>2</sub> Sn(OMe) <sub>2</sub>	diméthoxyde de dibutylétain
Bu <sub>2</sub> SnO	Oxyde de dibutylétain
Bu <sub>3</sub> SnH	Hydrure de tributylétain
BzCl	Chlorure de benzoyle
Bz	Benzoyle

## C

<i>c</i>	Concentration (g/100 mL)
C	Carbone
C <sub>q</sub>	carbone quaternaire
<i>c</i> -AMP	Adénosine monophosphate cyclique
CAN	Céric Ammonium Nitrate
CBC	Complexe <i>Burkholderia cepacia</i>
CCM	Chromatographie sur couche mince
CD4 ou 8	Cluster of Differentiation 4 ou 8
CDI	1,1'-Carbonyl-diimidazole
CF	Cystic Fibrosis
CFTR	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
CHCl <sub>3</sub>	Chloroforme
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Dichlorométhane
CH <sub>3</sub> CN	Acétonitrile
cm	Centimètre
CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
COSY	CORrelated SpectroscopY
CuI	Iodure de cuivre
CuSO <sub>4</sub>	Sulfate de cuivre
Cys	Cystéine



**D**

<i>d</i>	Deutérium
DCC	Dicylohexylcarbodiimide
DCU	Dicyclohexylurée
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène
DDQ	Dichloro dicyanoquinone
décomp.	Décomposition
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DIPC	Diisopropylcarbodiimide
DIPEA	<i>N,N'</i> -diisopropyléthylamine
DMAP	4- <i>N,N</i> -Diméthylaminopyridine
DMF	<i>N,N</i> -diméthylformamide
DMP	2,2-diméthoxypirone
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DMTST	Diméthyl(méthylthio)sulfonium trifluorométhansulfonate
DTNB	5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acide)

**E**

$\epsilon$	épsilon
<i>E. coli.</i>	<i>Escherichia Coli</i>
EDCI	1-éthyle-3-(3-(diméthylaminopropyle)carbodiimide
EDT	Éthandithiol

ELLA	Enzyme Linked Lectin Assays, anglais
EtOAc	Acétate d'éthyle
Et <sub>2</sub> O	Ether diéthylique
EPS	Exopolysaccharide
équ.	Équivalent
ER	endoplasmique
Et <sub>3</sub> N	Triéthylamine

## F

F508	Phénylalanine 508
FK	Fibrose kystique
Fuc	L-fucose
Fmoc	Fluorenyle-MéthOxy-Carbonyl

## G

Galp	Galactopyranoside
Glc	D-glucose
GlcNAc	<i>N</i> -Acétyl-D-glucosamine
GlcNPhth	<i>N</i> -phtalimido-D-glucose
Glc <sub>p</sub> A	Acide glucuropyranoside
Gln	Glutamine
Glu	Glutamate

**H**

H	Hydrogène
H <sub>2</sub>	Dihydrogène
h	Heure
HAUT	(7-Azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium hexafluorophosphate
HBF <sub>4</sub>	Hydrogène tétrafluoroborate
HBr	Bromure d'hydrogène
HBTU	2-(1 <i>H</i> -Benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethylaminium hexafluorophosphate
HCl	Acide chlorhydrique
HCTU	2-(6-Chloro-1- <i>H</i> -benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3- tetramethylaminium Hexafluorophosphate
HETCOR	Heteronuclear Chemical Shift Correlation
HF	Fluorure d'hydrogène
His	Histidine
HOBT	1-Hydroxybenzotriazole
HPLC	<b>H</b> ight <b>P</b> erformance <b>L</b> iquid <b>C</b> hromatography
HSL	Homosérines lactones
HSQC	Heteronuclear Simple Quantum Correlation

**I**

I <sub>2</sub>	Iode
IC <sub>50</sub>	Concentration en inhibiteur provoquant 50% d'inhibition
IDCP	Iodonium dicollidine perchlorate
Ig	Immunoglobuline
Im	Imidazole
IR	Infrarouge
ITC	Isothermal Titration Calorimetry, anglais
ivDde	(4,4-diméthyl-2,6-dioxocyclohex-1-ylidene)-3-méthylbutyle

**K**

K <sub>a</sub>	Constante d'affinité
Kcal/mol	Kilocalorie par mole
KJ/mol	Kilojoule par mol
K <sub>d</sub>	Constante de dissociation
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Bicarbonate de potassium

**L**

LC-MSD-TOF	liquid chromatography mass spectrometry time of flight
LiOH	Hydroxyde de lithium
Litt.	Littérature

Le <sup>a</sup>	Lewis a
Le <sup>x</sup>	Lewis x
Lev	Lévulinate
LPS	Lipopolysaccharide
Lys	Lysine

**M**

M	Molarité ; concentration (mol/L)
mCPABA	Acide <i>m</i> -chloroperoxybenzoïque
Me	Méthyle
MeI	Iodométhane
Me <sub>2</sub> EtN	<i>N,N</i> -diméthyléthylamine
MeOH	Méthanol
MeOTf	Méthylsilyltrifluorométhane sulfonate
MG	Magnésium
mg	Milligramme
MHz	Mégahertz
min.	Minute
mL	Millilitre
mmol	Millimole
Mmt	<i>p</i> -methoxyphenyldiphenylmethyl
MOE	<b>Modélisation Orbitale Électronique</b>
MP	Méthoxyphényle

Mpe	3-Méthyl-pent-3-yle
Ms	Mésylate
MsCl	Chlorure de mésylate
<i>m/z</i>	Rapport masse/charge

## N

NaCl	Chlorure de sodium
NaCNBH <sub>3</sub>	Cyanoborohydrure de sodium
NaH	Hydrure de sodium
NaHCO <sub>3</sub>	Hydrogénocarbonate de sodium
NaN <sub>3</sub>	Azoture de sodium
NaOMe	Méthanolate de sodium
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Carbonate de sodium
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfate de sodium
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimide
NBD	<b>Nucléotide Binding Domaine</b>
NH <sub>4</sub> Cl	Chlorure d'ammonium
NIS	<i>N</i> -iodosuccinimide
nm	nanomètre
nM	Nanomolaire
NOE	Effet Overhauser nucléaire
Nsu	<i>N</i> -succinimide

**P**

P2TT	Nom de peptide Tc-épitope
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PADRE	Nom de peptide Tc-épitope
Pbf	2,2,4,6,7-pentamethyldihydrobenzofurān-5-sulfonyl
Pd <sup>0</sup>	Palladium zero
Pd/C	Palladium sur charbon
Pd(OH) <sub>2</sub> /C	Dihydroxyde de palladium sur charbon
Pd <sup>0</sup> (PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	tétrakis-triphénylphosphine de palladium
Péb.	Point d'ébullition
PEG	(poly)éthylène glycol
p.f.	Point de fusion
Pfp	Pentafluorophényle
Ph	Phényle
Ph <sub>2</sub> SO	Diphénylsulfonique anhydre
PhSH	Thiophénol
Phth	Phthalimido
Pmc	2,2,5,7,8-pentamethylchroman-6-sulfonyl
PMB	<i>para</i> -Méthoxybenzyle
PPh <sub>3</sub>	Triphénylphosphine
ppm	partie par million
<i>p</i> TsOH	Acide <i>para</i> -toluènesulfonique

PyBOP  
phosphonium

Benzotriazol-1-yl-oxy-tris-pyrrolidino-  
hexafluorophosphate

## Q

QS

*Quorum sensing*

## R

rend.

Rendement

R<sub>f</sub>

Rapport frontale

Rhap

Rhamnopyranoside

RMN

Résonance Magnétique Nucléaire

RP

Reverse Phase

rpm

rotation par minute

## S

Ser

Sérine

SM (ESI)

Spectrométrie de masse (électrospray)

SMHR

Spectrométrie de masse haute résolution

S<sub>N</sub>

Sustitution nucléophile



SnCl <sub>4</sub>	Tétrachlorure d'étain
SIDA	Syndrome <b>I</b> mmuno <b>D</b> éficience <b>A</b> cquise
SPPS	Synthèse <b>P</b> eptidique en <b>P</b> hase <b>S</b> olide (anglais : <b>S</b> olid <b>P</b> hase <b>P</b> eptide <b>S</b> ynthesis)

## T

TBAI	Iodure de tetrabutylammonium
Tamis mol.	Tamis moléculaire
TBAHS	Hydrogénosulfure de tétrabutylammonium
TBAI	Iodure de tétrabutylammonium
TBAF	Fluorure de tétrabutylammonium
TBDPSiCl	Chlorure de <i>tert</i> -butyldiphénysilyle
TBTU	2-(1H-Benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethylaminium tetrafluoroborate
Tc-épitope	T cellule épitope
TCR	<b>R</b> écepteur de la <b>C</b> ellule <b>T</b> (anglais : <b>T</b> Cell <b>R</b> eceptor)
TEMPO	2,2,6,6-tétraméthylpipéridine-1-oxyle
TFA	Acide trifluoroacétique
Tf <sub>2</sub> O	trifluorométhanesulfonique anhydre
TfOH	Acide trifluorométhanesulfonique
THF	Tétrahydrofurane
TIPS	Triisopropyle
TISOTf	Triisopropylsilyle trifluorométhanesulfonate

TMSBr	Bromure de triméthylsilyle
Thr	Thréonine
TIS	Triisopropylsilane
TMSN <sub>3</sub>	Azoture de triméthylsilyle
TMSOTf	Triméthylsilyltrifluorométhane sulfonate
TNBS	Acide 2,4,6-trinitrobenzensulfonique
TNTU	<i>O</i> -(Bicyclo[2.2.1]hept-5-ene-2,3-dicarboximido)- <i>N,N,N',N'</i> - Tetramethyluronium tetrafluoroborate
TP	Température pièce
Trp	Tryptophane
Trt	trityle
TSTU	<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethyl- <i>O</i> -( <i>N</i> -succinimidyl)uronium tetrafluoroborate
Tyr	Tyrosine
<b>U</b>	
μL	Microlitre
μM	Micromolaire
UV	Ultraviolet
<b>Z</b>	
ZnCl <sub>2</sub>	Chlorure de zinc

## RÉSUMÉ

La fibrose kystique (FK) est une maladie génétique causée par la mutation du gène codant pour la protéine CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator). Celle-ci présente un défaut sur le canal à ions chlorure affectant ainsi entre autres la viscosité des muqueuses au niveau du système respiratoire. Cet environnement est alors propice aux colonisations bactériennes opportunistes sous la forme de biofilm. *Burkholderia cepacia*, bacille Gram-négatif mobile, multi-résistant aux antibiotiques et hautement transmissible, s'avère d'une extrême virulence pour les patients atteints de FK. Cette bactérie pathogène désigne en fait un ensemble de neuf souches rassemblées sous le nom de « complexe *B. cepacia* » (CBC). Au moins huit de ces neuf souches produisent un exopolysaccharide nommé Cepacian. Ceci est constitué d'un motif de répétition heptasaccharidique composé notamment de l'enchaînement  $\alpha$ -D-Rhap-(1→4)- $\alpha$ -D-GlcpA. Le D-rhamnose (ou 6-deoxy-D-mannose) est un sucre rare et un composant de glycoconjugués des parois de bactéries pathogènes mais est absent chez l'homme. Ce dernier est donc un excellent candidat antigénique dans le cadre de la préparation d'un vaccin entièrement synthétique et spécifique. L'élaboration de celui-ci consiste en un activateur universel immunogénique peptidique (Tc-épitope) et/ou protéique (semi-synthétique) fonctionnalisé par une unité antigénique spécifique. Dans ce but, un tri-*O*-saccharide de constituant de LPS de *B. cepacia* et composé majoritairement de D-rhamnose, ainsi que des fragments du motif répétition de l'exopolysaccharide du CBC ont été synthétisés. Des méthodes de synthèses orthogonales ont été optimisées avec de hauts rendements sur les cinq types de sucres du CBC, spécifiquement le D-rhamnose, et l'acide glucuronique ainsi qu'une série de glycosylations. La synthèse linéaire en 18 étapes conduit à l' $\alpha$ -D-Rhap-(1→4)- $\alpha$ -D-Galp-(1→3)- $\alpha$ -D-Rhap avec 11.3% de rendement global. La dernière étape sera la conjugaison de Tc-épitope par ce dernier afin d'obtenir un vaccin entièrement synthétique.

**Mots-clés:** vaccin synthétique, T-cell épitope, *Burkholderia cepacia*, fibrose kystique, oligosaccharide, D-rhamnose, Complexe *B. cepacia*.

## CHAPITRE I

### INTRODUCTION

#### 1.1 AVANT-PROPOS

Les contenus des travaux effectués durant ce projet de maîtrise seront divisés en six chapitres. Le premier chapitre introduira les aspects biologiques et biochimiques en abordant les traitements médicaux vis-à-vis du système immunitaire. Seront également développées l'importance des hydrates de carbone dans le domaine pharmaceutique actuel, ainsi que l'hypothèse et l'application de vaccins semi synthétiques.

Le chapitre II fera un survol de la maladie impliquée dans ce contexte de recherche qui est la fibrose kystique et ainsi que la bactérie *B. cepacia* responsable de cette maladie. Sa structure oligosaccharidique est la principale cible de recherche synthétique qui sera détaillée dans les Chapitre III et IV. Une conclusion générale ainsi que la liste des publications sont placées au Chapitre V. Finalement, la partie expérimentale de toutes des réactions sera détaillée dans le Chapitre VI.

#### 1.2 VACCINS vs ANTIBIOTIQUES

« Bacterie », 1 140 000 résultats sur google, « microbes », 5 090 000, « virus » 220 000 000 résultats, maladie plus de « 18 000 000 ». Données brutes et factuelles illustrant la préoccupation internationale concernant le domaine de la santé et du bien-être ainsi que le

rejet de la maladie. Il est loin le temps où Louis Pasteur reccusait la thèse de la génération spontanée des micro-organismes. Depuis, la médecine moderne a mis au point une batterie de tests et traitements efficaces pour prévenir et combattres les micro-organismes, dont les antibiotiques et les vaccins sont le fer de lance. Mais à la base de cet arsenal, se trouve une compréhension plus profonde chaque jour de l'arme ultime : le système immutaire.

Le premier antibiotique a été découvert entre 1894 et 1897 par Ernest Duchesne en étudiant les interactions entre *E. coli* et *Penicillium glaucum*. Laissés sans suite, les propriétés antibiotiques de la péniciline furent redécouvertes par Alexandre Flemming en 1928.<sup>1</sup>

Un antibiotique est une substance ciblant spécifiquement les bactéries soit en empêchant leur croissance (bactériostatique) soit en ayant une action toxique directe (bactéricide). Le mode d'action procède contre la bactérie de 4 façons différentes 1) sur la paroi bactérienne; 2) sur la membrane cellulaire (hôte); 3) sur l'ADN (hôte); 4) sur le ribosome bactérien. Plusieurs faiblesses en résultent néanmoins. En premier lieu, l'évolution des bactéries selon le processus de sélection naturelle par mutation aléatoire continue, permet une constante adaptation des bactéries face à tout type d'environnement hostile. En effet, ces micro-organismes ont la faculté de se transférer des gènes de résistance grâce aux plasmides et transposons. Différents mécanismes de transfert sont utilisés : vertical (même espèce), horizontal (espèces différentes), par transduction *via* un bactériophage comme vecteur, par transformation (acquisition et l'incorporation de l'ADN exogène nu présent dans son environnement) ou par conjugaison (contact sexuel à travers les pili). En second lieu, les actions directes affaiblissent la cellule hôte face au système métabolique cellulaire. Pour contrecarrer ces faiblesses, d'autres techniques thérapeutiques se développent et se substituent graduellement aux antibiotiques telles que des pharmacophores glycodendritiques ou des vaccins antibactériens. Ces traitements sont d'autant plus primordiaux dans le cadre des bactéries multi résistantes, c'est-à-dire possédant des gènes de résistance contre plusieurs

---

<sup>1</sup> Références historiques et généralistes : Encyclopédie Universalis et Larousse Médical

antibiotiques, ou « *super bugs* » telles que *S. aureus* ou dans le cadre de cette étude, *B. cepacia*.

La vaccination, dont l'étymologie « vaccine » dérive de l'innoculation de la variole ou vaccina de la vache, permet l'activation du système immunitaire. Ce principe initié en Europe par Edward Jenner en 1796 puis expliqué, développé par Louis Pasteur, se base sur l'introduction d'agents pathogènes non virulents. Le but est de favoriser la production d'anticorps, lesquels en stimulant les défenses immunitaires, préviennent l'attaque du pathogène xénobiotique pendant une durée variable. En effet, la vaccination repose sur le principe de mémoire immunitaire, dont dépend la réponse, soit la vitesse d'activation du système immunitaire.

Depuis quelques temps, on assiste à une interrogation grandissante de la part du grand public face à la vaccination traditionnelle. Des effets secondaires plus ou moins graves (Bécégites), une efficacité discutée (éradication de la variole), la présence d'adjuvants ou de conservateurs, tels que l'éthylmercure (thiomersal) dont le seul effet secondaire identifié est pourtant une sensibilisation allergique retardée ou l'hydroxyde d'aluminium utilisé contre l'hépatite A, l'hépatite B, la diphtérie, la coqueluche et le tétanos, suspecté d'avoir des conséquences neurotoxiques inquiètent à tort ou à raison<sup>2</sup>. Il existe plusieurs type de vaccins, regroupés en trois grandes catégories, elles mêmes subdivisées : les vaccins vivants sont constitués de micro-organismes non pathogènes et qui ont conservé un léger pouvoir d'infection temporaire. Il peut s'agir de souches homologues (issues de l'espèce microbienne qui cause la maladie) ou hétérologues (issues d'une espèce microbienne apparentée, mais exprimant des antigènes communs). La plupart des vaccins vivants sont élaborés à partir de souches avirulentes (ou très peu virulentes). Bien qu'efficaces, ce sont des vaccins fragiles et leur innocuité n'est pas toujours bonne. Parmi ces vaccins on compte, les vaccins atténués, les homologues/hétérologues, les OGM vaccinaux et les OGM modifiés. Les vaccins inactivés sont constitués de micro-organismes qui ont subi un processus d'inactivation visant à bloquer

---

<sup>2</sup> M. S. Petrik, M. C. Wong, R. C. Tabata, R. F. Garry et C. A. Shaw, *NeuroMolecular Medicine*, 9, 1,

leurs capacités d'infection et leur pouvoir pathogène, sans dénaturer les antigènes impliqués dans la protection. Leur innocuité est bonne, ils sont peu fragiles, mais d'une efficacité très variable. Les vaccins sous-unités sont constitués de fractions microbiennes (plus ou moins purifiées). Leur innocuité est très bonne, ils sont peu fragiles, mais leur efficacité est également très variable. Dans cette sous-catégorie sont inclus les anatoxines (antigènes purifiés à partir d'une souche vaccinale et soumis à un processus d'inactivation pour supprimer la toxicité.), les antigènes purifiés à partir d'un OGM vaccinal ou d'une souche vaccinale, les peptides de synthèses produits *in vitro*, contenant un ou plusieurs épitopes des antigènes impliqués dans la protection.

Les vaccins de synthèse polysaccharidiques développés par le Pr. René Roy permettent de limiter nombre des effets néfastes associés aux vaccins traditionnels. En effet, l'utilisation de la synthèse organique permet d'obtenir l'unité spécifique du xénobiotique et se démarquer de tout matériel biologique.

La maladie ciblée dans le présent projet est la fibrose kystique. Le traitement médical actuel de cette maladie génétique orpheline, incurable, dont les personnes atteintes sont sujettes à nombre d'infections, utilise préventivement des antibiotiques. L'une des bactéries impliquées dans cette pathologie et faisant l'objet du présent travail, *Burkholderia cepacia*, manifeste une multirésistante aux antibiotiques. C'est pourquoi la notion de vaccin antibactérien trouve tout son intérêt dans le cas présent. Déjà auteur de deux vaccins synthétiques, et au vu des avantages précédemment cités, le Pr. Roy par le biais de cette étude, se propose de développer une librairie de vaccins potentiels contre *B. cepacia*. En synthétisant chimiquement une unité xénobiotique polysaccharidique et en la couplant à une partie peptidique, une grande spécificité antigénique sera atteinte en assurant une stimulation de la mémoire immunitaire de longue de durée.

### 1.3 SYSTÈME IMMUNITAIRE

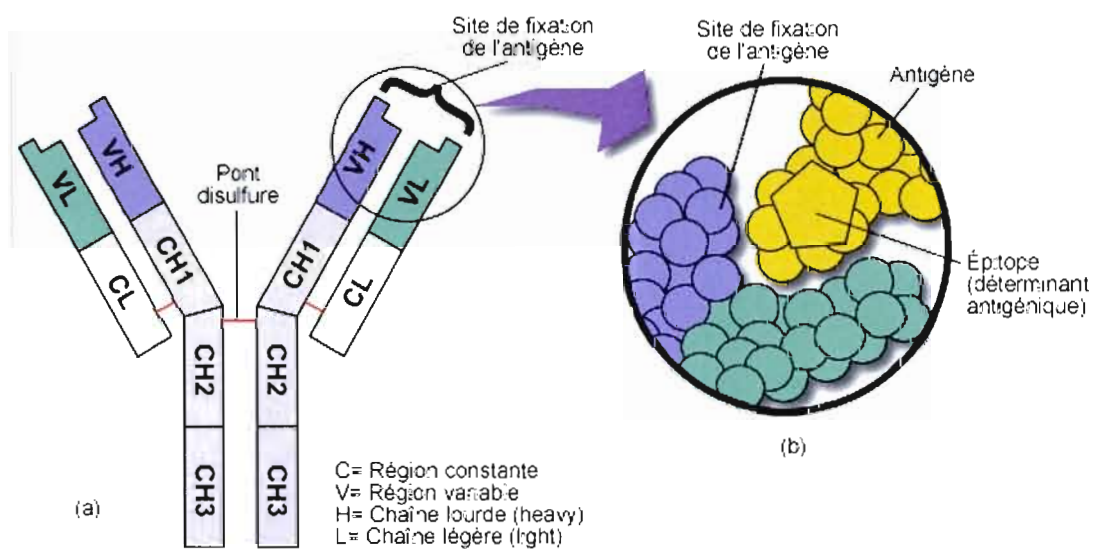
Deux concepts importants forment la base de l'immunologie moderne. D'une part, le système « inné » induit une réponse rapide, sans mémoire et sans faire appel au concept d'antigène. La réaction est globale, non spécifique. Les cellules touchées par l'introduction

d'un xénogène, quel qu'il soit, ainsi que celles du système immunitaire réagissent de manière stéréotypée. Ce système est constitué, outre de barrières physiques, deux types de protéines spécialisées : le complément et les cytokines. Le complément est un système enzymatique comprenant une série de protéines différentes qui enveloppent l'antigène après l'introduction dans l'organisme. La fixation d'une protéine sur ceux-ci déclenche un attachement des autres en cascade qui a pour fonction d'attirer les phagocytes, processus dénommé chemotaxis. En conséquence, l'attachement de phagocytes entraîne la lésion de ce xénogène. Les cytokines comprennent surtout les interférons, molécules sécrétées par des cellules en réponse à une infection d'origine virale, qui protègent les cellules voisines, non infectées, en « interférant » avec le relâchement de nouvelles particules virales à partir de la cellule infectée. D'autre part, le système « adaptatif » intervient lorsque la réponse innée s'avère inefficace. Cette réponse se base sur l'antigène et consiste en la sélection de clones de lymphocytes, capables de cibler spécifiquement le danger. Ce phénomène est lent, strictement dépendant des antigènes, et possède une mémoire immunitaire. Par exemple, un adulte a en mémoire de  $10^9$  à  $10^{11}$  protéines étrangères différentes. L'effet de la vaccination est donc de provoquer cette mémoire d'une première rencontre avec un pathogène. Le système adaptatif fait intervenir les lymphocytes T et B, ainsi que les substances qu'ils sécrètent, les anticorps. Les lymphocytes T représentent plus de 80 % des lymphocytes en circulation. Il existe deux types de lymphocytes T : les cellules T cytotoxiques ( $T_c$ ) qui, lorsqu'elles sont activées, détruisent directement les cellules infectées par des virus et les cellules tumorales, et les cellules T facilitatrices ( $T_h$ -helper), qui contrôlent d'autres aspects de la réponse immunitaire. Les lymphocytes B comptent pour environ 10 % des lymphocytes en circulation dans le sang. Lorsque le système immunitaire rencontre un agent étranger, les lymphocytes B sont stimulés, se multiplient et se mettent à produire des anticorps, lesquels se fixent spécifiquement aux protéines étrangères, dites antigènes.

Les anticorps, sont des glycoprotéines de la famille des immunoglobulines formées de 4 chaînes polypeptidiques : 2 chaînes lourdes (H) et 2 chaînes légères (L). Les deux chaînes sont reliées entre elles par des ponts disulfures ce qui assure à la molécule une certaine flexibilité. La structure en Y des ces chaînes sont des immunoglobulines de 110 acides aminés environ. Pour un anticorps, les deux chaînes H ainsi que les L sont identiques.



Chaque molécule d'anticorps possède une structure unique qui lui permet de lier spécifiquement son antigène, mais tous les anticorps partagent la même structure générale (Y avec 2H et 2L, **Figure 1**) qui permet de les classer dans les immunoglobulines ou Ig (isotype), donc IgG, IgD, IgA (les trois plus petites), IgM, IgE (deux moyenne taille) et IgM (la plus grosse).



**Figure 1** : Structure générale de l'anticorps

Chaque immunoglobuline a un rôle particulier. Par exemple, le IgG aide à la neutralisation des toxines, bactéries et virus, tandis que IgM a un effet sur l'agglutination et sur la voie classique du complément.

La liaison d'un anticorps à un antigène soluble forme un complexe immunitaire. De grands complexes immunitaires se forment quand suffisamment d'anticorps sont disponibles pour complexer l'antigène. Il en résulte l'élimination rapide de l'antigène par le système des macrophages qui ont des récepteurs du complément. Ce complexe immunitaire se divise en deux classes : complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (CMH I) et de classe II (CMH II).

Celui-ci est activé par un Tc-épitope et est reconnu par la cellule T. Il en résulte un ensemble d'interactions entre Tc-épitope, CMH/peptide, lymphocyte T, lymphocyte B et l'anticorps.<sup>3</sup>

Cette compréhension certes basique du système immunitaire est nécessaire pour produire un vaccin, et ce, d'autant plus s'il est synthétique. En effet, la conception d'un vaccin synthétique s'articule autour de deux axes : 1) une partie antigénique provenant de la structure moléculaire de la paroi bactérienne ou virale, déterminée après isolation et analyse structurale du pathogène cible la réponse immunitaire; 2) une partie protéique ou peptidique, dite Tc-épitope, différant de la partie antigène précédente mais antigène naturel au CMH permet d'activer globalement le système immunitaire, comme vu précédemment.

#### 1.4 T-CELL ÉPITOPES

Un épitope, aussi appelé déterminant antigénique, est une molécule qui peut être reconnue par un paratope (partie variable d'un anticorps ou d'un récepteur membranaire des lymphocytes T), pour déterminer si elle appartient au domaine du soi ou au domaine du non-soi. Un antigène est caractérisé par ses épitopes. Si ses épitopes sont reconnus comme appartenant au non-soi alors il est lui-même immédiatement reconnu comme appartenant au non-soi. Cette reconnaissance épitope/paratope est donc à la base de la réponse immunitaire spécifique : elle permet la sélection clonale, c'est-à-dire la sélection des acteurs capables de s'attaquer spécifiquement à l'antigène correspondant à un épitope particulier.

Les épitopes T sont des parties de protéine (ou dans certains cas particuliers des polysaccharides) présentés à la surface des cellules de l'organisme dans le but d'être reconnus par le système immunitaire. Ces polypeptides sont la plupart du temps des résidus de protéines dégradées par la cellule hôte, ils sont ensuite associés à des complexes protéiques appelés CMH (Complexe majeur d'histocompatibilité), qui en se fixant sur la membrane plasmique de la cellule hôte permettront la présentation de l'épitope aux cellules immunitaires. Les épitopes T peuvent être présentés par deux types de molécules CMH, les molécules CMH de classe I et les molécules CMH de classe II.

---

<sup>3</sup> Wuorimaa, T.; Kayhty, H. *Scand. J. Immunol.* **2002**, 56, 111-129.

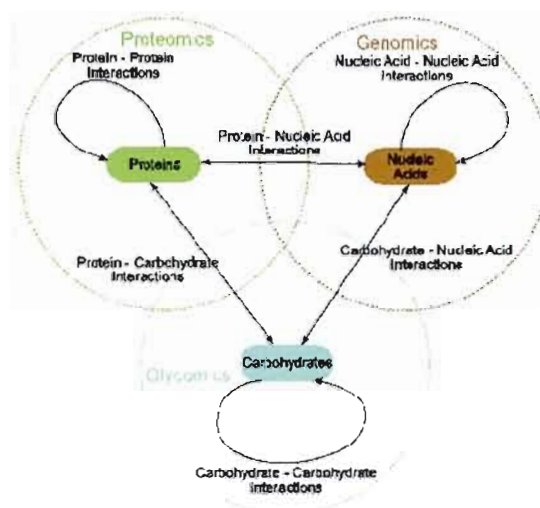
Les molécules CMH de classe I sont présentes dans presque toutes les cellules de l'organisme et permettent de présenter des épitopes issus de protéines endogènes, c'est-à-dire codées et produites à partir du génome de la cellule puis dégradées en peptides de 9 acides aminés par le protéasome. Ces épitopes sont donc exclusivement de type séquentiel. Les CMH I présentent leur épitopes aux TCR (pour T cell receptor) des lymphocytes T8 CD8+. Si la protéine ayant abouti à un épitope particulier est une protéine virale, c'est-à-dire qu'elle est le fruit de l'infection de la cellule par un virus, alors l'épitope en question sera reconnu par les cellules immunitaires comme viral et entraînera l'activation d'une réaction immunitaire amenant à la lyse de la cellule par les lymphocytes T8 dit lymphocytes cytotoxiques.

Si la protéine est une protéine du "soi", alors l'épitope correspondant sera reconnu comme tel et empêchera l'activation d'une réaction immunitaire contre cette cellule. L'épitope reconnu étant issu de l'activité intracellulaire, il représente les protéines de la cellule et est la clé de l'immunité à médiation cellulaire.

Dans d'autres cas les polypeptides formant l'épitope ne sont pas de type endogène, c'est-à-dire que les protéines ne sont pas traduites du génome de la cellule, comme précédemment, mais sont d'origine exogène. En effet certaines cellules, les cellules présentatrices d'antigène ou CPA (les cellules dendritiques, les lymphocytes B et les macrophages) présentent à leur surface un autre type de molécule CMH (dit de classe II) spécialisées dans la présentation de polypeptides issus de protéines exogènes, apportées par un organisme étranger, entrées dans le milieu intracellulaire par endocytose et découpées en polypeptides (de 11 à 25 acides aminés) dans les endosomes. Ces cellules peuvent donc présenter un antigène dit natif au TCR (pour T cell receptor) des lymphocytes T4 qui se différencieront d'une part: 1) en lymphocytes T helper 2 et activeront à leur tour par le biais de cytokines (Interleukine2 (IL2), IL4, IL5, IL10) les lymphocytes B pré-activés et donc la prolifération d'anticorps spécifiques de cet antigène. Ces anticorps pourront ainsi se fixer aux épitopes B de l'antigène en question et le neutraliser. Les épitopes T formés à partir de protéines natives participent donc à l'immunité humorale ; 2) en lymphocyte T helper 1 et activeront à leur tour par le biais de cytokines (IL2 et interféron  $\gamma$ ) l'activité des lymphocytes T8. Ces épitopes participent donc aussi à l'immunité à médiation cellulaire.

## 1.5 IMPORTANCE DES CARBOHYDRATES

Les hydrates de carbones sont les biomolécules les plus abondantes de la planète. Comme l'étendue de leur rôle au niveau biologique est encore peu connue, la glycobiologie s'attache à l'étude approfondie des composés. Par exemple, les sucres sont impliqués dans les processus biologiques vitaux comme la fertilisation, l'anti-inflammation, l'immunoréponse et la détermination antigénique.<sup>4</sup>



**Figure 2 :** Différents types d'interactions entre les trois domaines biopolymères

La plupart des processus de transduction de signal dans des organismes vivants sont provoquées par trois biopolymères répétifs : acides nucléiques, protéines et glycoconjugués. La structure et la fonction des acides nucléiques comme des peptides et des protéines ont été

<sup>4</sup> Demchenko, A. V., *Frontiers in Modern Carbohydrate Chemistry*, ACS Symposium Serie 960, 2005.

intensivement étudiées, y compris différentes classes des interactions (**Figure 2**)<sup>5,6</sup> génomique<sup>7</sup>, protéomique<sup>8</sup> et glycomique<sup>5,6,9,10</sup> représentant trois domaines interconnectés d'organismes vivants.<sup>11</sup> En comparaison de la génomique et du protéomique, le développement dans le glycomique est plus exigeant dû à l'augmentation énorme des variations structurales possibles. Le glycomique limitant était l'introduction pour décrire le glycobiologie et l'interaction des hydrates de carbone avec les deux autres classes principales des biopolymères.<sup>11,12</sup>

L'application, l'interaction biologique et la structure glycanique de la paroi bactérienne Gram négative démontrent l'importance des hydrates de carbones. En plus, le système immunitaire a également reçu les rôles de ces composés naturels. L'ensemble des notions décrites des sections 1.1 à 1.5 constitue une base théorique pour l'application de l'hypothèse sur la préparation d'un vaccin semi-synthétique ou entièrement synthétique.

## 1.6 VACCINS SEMI-SYNTHETIQUES

Depuis l'introduction du premier vaccin synthétique au monde par le Pr. R. Roy,<sup>13</sup> la notion de vaccins synthétiques connaît un engouement à la différence du vaccin traditionnel. Le principe a été décrit précédemment et consiste en la synthèse d'un peptide immunogénique permettant de se lier au CMH (section 1.3) et une série des synthèses de différents fragments oligosaccharidiques de la bactérie cible (*B. capacia*, Chapitre III, IV et VI), la partie antigénique. Le couplage final avec un Tc-épitope synthétisé constituera un

---

<sup>5</sup> Seeberger, P. H., *Chem. Commun.*, **2003**, 1115-1121.

<sup>6</sup> Ratner, D. M.; Adams, E. W.; Disney, M. D.; Seeberger, P. H., *ChemBioChem.*, **2004**, 5, 1375-1383.

<sup>7</sup> Peng, X. *methods Mol. Wed.* **2006**, 129, 27-39.

<sup>8</sup> Patterson, S. D., Aebersold, R. H. *Nat. Genet. Suppl.*, **2003**, 33, 311-323.

<sup>9</sup> Feizi, T, Mulloy B. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2003**, 13, 602-604.

<sup>10</sup> Werz, D.B.; Seeberger, P. H. *Chem. Eur. J.*, **2005**, 11, 3194-3206.

<sup>11</sup> Niederhafner, P; Šebestík, J. and Ježek, A., *J. Pept. Sci.*, **2008**, 14, 2-43.

<sup>12</sup> Azunobu, T. and Kuniaki, T. *Chem. Rev.*, **1993**, 1503-1531.

<sup>13</sup> Roy, R. *Drug Discovery Today: Technologies*, **2004**, 1, 327-336.

vaccin potentiel entièrement synthétique. Enfin, si la fonctionnalisation se fait *via* une protéine porteuse reconnue naturellement par le CMH, le vaccin est dit semi-synthétique. Le processus de la fonctionnalisation est proposé selon la chimie de conjugaison. Des méthodes telles que la « click chemistry » sont utilisées pour lier deux fonctions des deux molécules afin de devenir une seule.<sup>14</sup>

## 1.7 OBJECTIFS

De nombreuses maladies requièrent des traitements novateurs. Trouver ces traitements, comprendre les mécanismes mis en jeu et soulager la souffrance sont les buts de la chimie thérapeutique. Le projet présent s'articule autour de ces aspects en ciblant la fibrose kystique pour générer un vaccin synthétique contre *B.cepacia* et permettre ainsi d'offrir à ces personnes une meilleure qualité et espérance de vie.

Le premier objectif de ce travail est la synthèse d'une bibliothèque de monosaccharides intervenant dans les fragments oligosaccharidiques cibles d'un exopolysaccharide capsulaire de *B. cepacia*. Par la suite, la synthèse de di et trisaccharides représentés dans la chaîne *O*-polysaccharide d'un liposaccharide de la bactérie ainsi que les fragments composant le motif heptasaccharidique du complexe *B. cepacia*.

L'objectif final de ce projet serait la conjugaison des oligosaccharides avec le Tc-épitope.

---

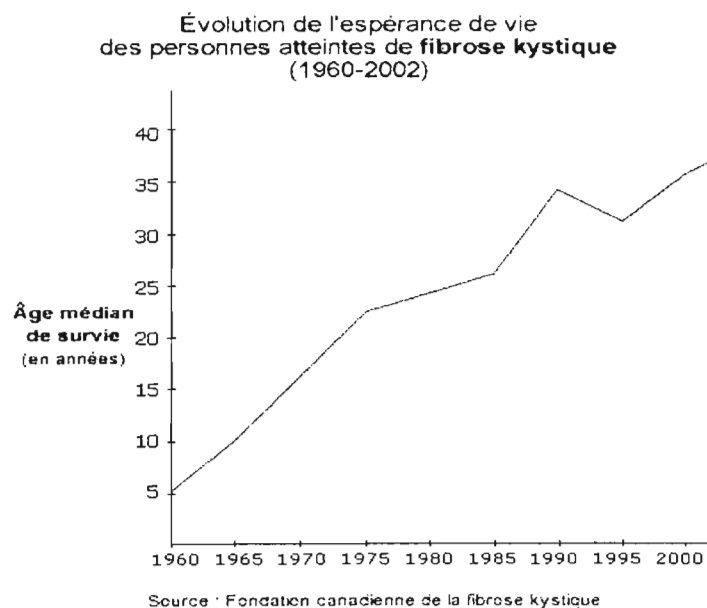
<sup>14</sup> Arnon, R. Synthetic Vaccines, Volume I et II, CRC Press, Inc. Floride, 1987.

## CHAPITRE II

### FIBROSE KYSTIQUE

#### 2.1 HISTORIQUE

La fibrose kystique ou mucoviscidose est une maladie héréditaire autosomique récessive qui touche actuellement environ 3500 Canadiens, selon le plus récent rapport datant de 2002, soit un nouveau né sur 2500.<sup>15</sup> Sur ce nombre, l'âge moyen de survie est de 37 ans, cependant peu atteignent la trentaine (**Figure 3**).

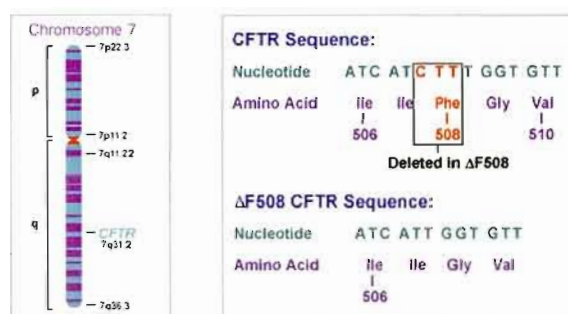


**Figure 3** : Evolution de l'espérance de vie des personnes atteintes de FK (1960-2002)<sup>15</sup>

---

<sup>15</sup>[http://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=fibrose\\_kystique\\_pm](http://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=fibrose_kystique_pm)

L'intérêt constant de la communauté scientifique internationale pour cette affection orpheline a permis de doubler l'espérance de vie des personnes atteintes depuis les années 70. Décrite pour la première fois par le Docteur Guido Fanconi en 1936,<sup>16</sup> on retrouve néanmoins des références à la fibrose kystique très anciennes notamment dans le folklore européen, à travers l'adage : « *Malheur à l'enfant qui, quand il est embrassé sur le front, goûte salé, il est ensorcelé et doit bientôt mourir* ». <sup>17</sup> En effet, une particularité phénotypique de la fibrose kystique, est une sueur excessivement salée ou hypertonique (teneur en ions chlorure supérieure à 60 mmol/l), anomalie électrolytique exploitée par le Pr. San Agnese en 1953 pour dépister les enfants atteints lors du « Test de la sueur ». <sup>18</sup> Ce n'est qu'en 1989 que l'équipe du Pr. Lap Chee Tsui découvre le caractère mono génétique de la maladie *via* la mutation du gène « Cystic Fibrosis » responsable situé sur le bras long du chromosome 7 (figure 4A), codant pour une protéine de 1480 acides aminés « Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator » (CFTR). <sup>19</sup> Cette protéine se comporte comme un canal à ions chlorure (figure 4A), lequel n'assume plus son rôle lorsque qu'intervient une mutation génétique (actuellement 1400 identifiées à ce jour dont 70% proviennent de la délétion  $\Delta F508$  de trois bases codant pour la phénylalanine dans la séquence nucléotidique de la CFTR, figure 4B). <sup>20</sup>



**Figure 4 :** A) Localisation du gène codant pour la protéine CFTR sur le Chr. 7 impliqué dans la FK. B) Délétion  $\Delta F508$  sur le gène. <sup>20</sup>

<sup>16</sup> Fanconi G., Uehlinger E., Knauer.C., *Wien Med. Wschr.* **1936**, 86, 753-756.

<sup>17</sup> Welsh MJ. and Smith AE. *Sci. Am.* **1995**, 273, 52-59

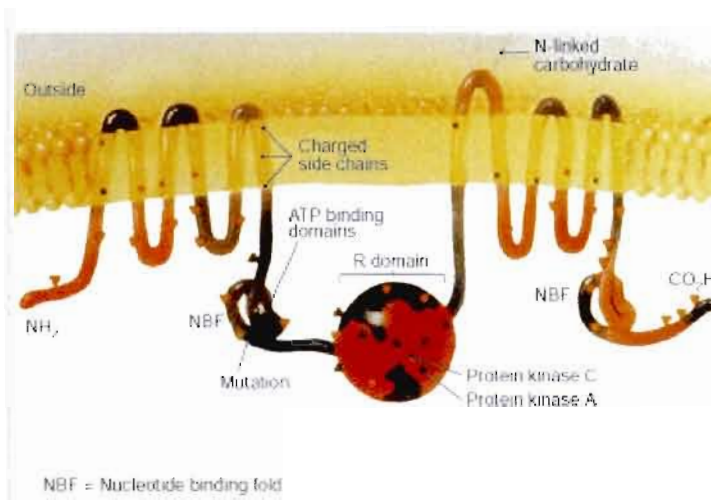
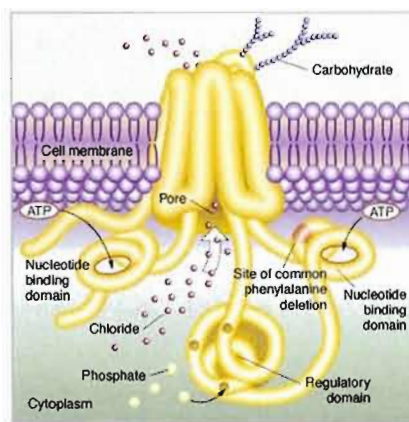
<sup>18</sup> Darling R.C., diSant'Agnese P.A., Perera G.A., Andersen D.H. *Am. J. Med. Sci.* **1953**, 225, 67

<sup>19</sup> Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B-S, *et al.* *Science.* **1989**, 245, 1059-65

<sup>20</sup> <http://genome.gsc.riken.go.jp/hgmis/posters/chromosome/cftr.html>



Il en résulte une déficience dans le transport ionique et passif (figure 5), dont les cellules des systèmes respiratoire, gastro-intestinal, hépatobiliaire et reproducteur pâtiennent. Ce défaut de salinité a notamment des répercussions sur la viscosité des muqueuses (d'où le nom européen de la maladie « mucoviscidose ») ce qui favorise l'adhérence de colonies microbiennes persistantes menant dans bien des cas à des infections fatales.<sup>21</sup>

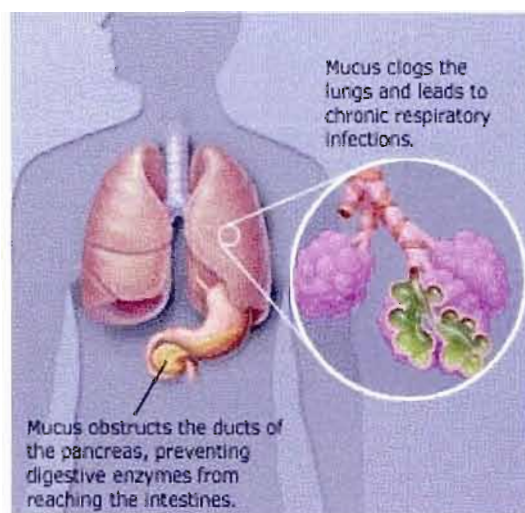


**Figure 5 : A) Protéine transmembranaire canal à ion Cl<sup>-</sup> (CFTR) normale.<sup>22</sup> B) Protéine CFTR mutée dysfonctionnelle.**

<sup>21</sup> Saiman, L.; Siegel, J. *Clin. Microbiol. Rev.* **2004**, *17*, 57-71

<sup>22</sup> <http://www.cfgenetherapy.org.uk/CFTR.htm>

Des altérations au niveau du gène codant pour CFTR entraînent également une modification de l'état de glycosylation des glycoprotéines et glycolipides de la surface épithéliale pulmonaire. L'altération fonctionnelle des canaux CFTR se traduit au niveau pulmonaire par la sécrétion d'un mucus anormalement épais et hypertonique recouvrant les voies respiratoires. Les bronches deviennent alors de véritables incubateurs propices à une colonisation bactérienne nommée « biofilm » qui est une communauté de microorganisme adhérant entre eux, fixée à une surface (bactéries dites sessiles), et caractérisée par la sécrétion d'une matrice adhésive et protectrice (**Figure 6**), conduisant à leur obstruction chronique et responsable des complications les plus graves et de la majorité des cas de mortalité.<sup>23,24</sup>



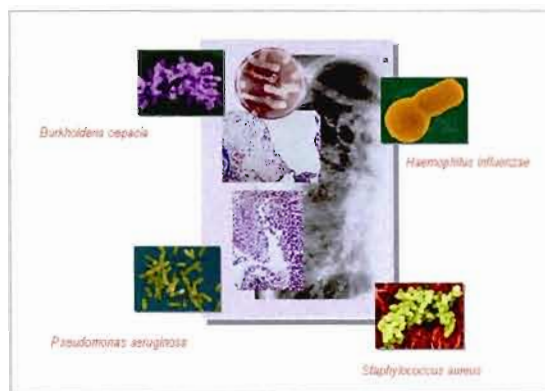
**Figure 6 :** Biofilm observé chez les patients atteints de la fibrose kystique

Dans le cas de fibrose kystique, cette colonisation bactérienne peut être causée par quatre types de bactéries (**Figure 7**). En effet, *Haemophilus influenza*, *Staphylococcus*

<sup>23</sup> Engelhardt, J. F.; Yankaskas, J. R.; Ernst, S. A.; Yang, Y.; Marino, C. R.; Boucher, R. C.; Cohn, J. A.; Wilson, J. M. *Nat. Genet.* **1992**, 2, 240.

<sup>24</sup> Inglis, S. K.; Corboz, M. R.; Taylor, A. E.; Ballard, S. T. *Am. J. Physiol.* **1997**, 272, L372.

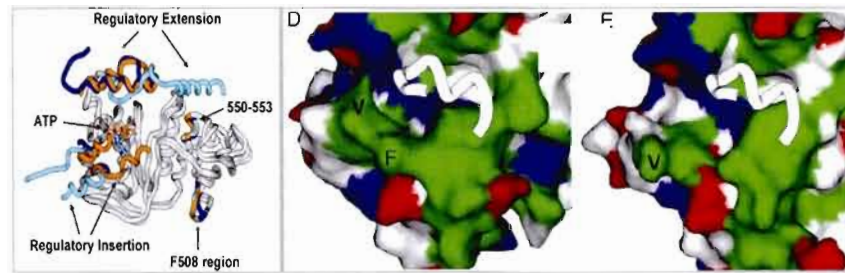
*aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Burkholderia cepacia* sont des bactéries, présentes dans l'environnement, sont responsables de la mortalité des patients atteints de fibrose kystique.



**Figure 7 : Quatre types de bactéries responsables de la formation du biofilm impliquées dans la fibrose kystique**

## 2.2 LES DEFIS, LES APPROCHES

Cette maladie génétique est probablement causée par la protéine nommé NBD1 du CFTR (**Figure 8A**) due à la délétion du résidu Phe-508 ( $\Delta F508$ ) sur le chromosome 7, responsable du codage de la protéine CFTR, situé dans la première liaison nucléotidique NBD1-NBD2 (**Figure 8B et C**). Cette découverte amène les biochimistes à amplifier la recherche sur la voie métabolique du CFTR illustrée dans la **Figure 9**, malgré l'absence de caractère immunogène imputable à la maladie à ce jour. Le mécanisme de la régularisation du CFTR (**Figure 9A**), de la protéine sécrétoire de ce dernier (**Figure 9B**), et le contrôle du regroupement des protéines résidant dans le réticulum endoplasmique par leurs fonctions et/ou propriétés, impliqué dans la translocation (**Figure 9C**), sont étudiés et démontrés par plusieurs groupes de recherche.

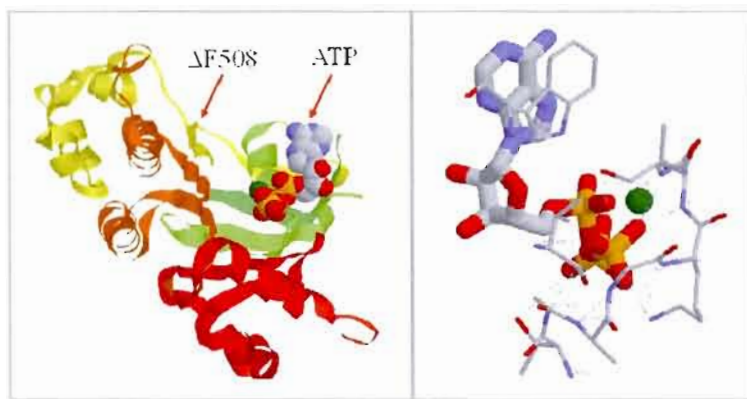


**Figure 8 : A) Structure du NBD1 du CFTR; B et C) Structure du site actif de Phe-508 dans NBD1 de CFTR : hNBD1 -  $\Delta$ F508<sup>7</sup>.**

L'étude structurale et biophysique complète de ce domaine humain NBD1-NDB2 en présence et en absence de cette mutation  $\Delta$ F508, par cristallographie et par modélisation moléculaire (**Figure 8 et 10**), démontre que le site actif est modulé par l'activité de l'ATPase entraînant la phosphorylation qui adapte la multiple conformation de cet hétérodimère.



synergique, dont l'hydrolyse de la protéine mutée, et par conséquent, l'empêchement de la propagation de la maladie.<sup>25,26</sup>



**Figure 10 :** **A)** Structure cristalline du domaine Humain NBD1- ΔF508 complexé avec son ligand ATP et MG (PUBsum); **B)** l'interaction hydrophobe de ce ligand dans le site actif de cette protéine membranaire (PDB : 1XMJ).

Cette délétion, ΔF508, dans la première liaison nucléotidique NBD1-NBD2 sur le CFTR est la cible d'étude en chimie computationnelle avec sa structure en 3D illustrée dans la **Figure 10**. Cette protéine transmembranaire contenant une seule chaîne de 451-622 résidus<sup>27</sup> est synthétisée dans le réticulum endoplasmique (ER) et a été co-cristallisée avec son ligand l'adénosine-5'-triphosphate (ATP) et l'ion magnésium ( $Mg^{2+}$ ). Ce ligand, ATP, est un enzyme (3.6.3.49) de phosphorylation lors de l'étape de transport activé par la formation du canal de chlorure (Fibrose kystique) dont c-AMP dépendant, et également comme un inhibiteur de transférase.<sup>28</sup>

<sup>25</sup> [http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human\\_Genome/posters/chromosome/cftr.shtml](http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/posters/chromosome/cftr.shtml). Cité le 20 mars 2008.

<sup>26</sup> Crystal structure of human deltaF508 human NBD1 domain with ATP  
<http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=1XMJ>. Cité le 20 mars 2008.

<sup>27</sup> <http://www.rcsb.org/pdb/results/results.do>. Cité le 20 mars 2008.

<sup>28</sup> <http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/cgi-bin/pdbsum/GetPage.pl?pdbcode=1xmj&template=ligands.html&l=1.1>. Cité le 20 mars 2008.



En résumé, l'isolation et l'étude de la protéine responsable de la fibrose kystique permet d'améliorer la compréhension des mécanismes biochimiques tels que la phosphorylation de l'ATP dans le site actif. La structure cristallographique du complexe NDB1-ATP étudiée par modélisation moléculaire et sur chimie computationnelle, indique que ce site actif constitue une cible thérapeutique intéressante. Dans ce contexte, le professeur R. Roy à l'Université du Québec à Montréal a mis en place une stratégie de conception d'un vaccin synthétique<sup>29</sup> contre la bactérie en cause, *Burkholderia cepacia*.<sup>30,31,32</sup>

### 2.3 LA CIBLE : BURKHOLDERIA CEPACIA

La bactérie ciblée par ce traitement est un complexe de neuf souches toutes potentiellement virulentes et regroupées sous le nom de « complexe *Burkholderia cepacia* » (CBC).<sup>33</sup> Ce pathogène opportuniste, initialement connu pour causer la pourriture des bulbes d'oignons (**figure 11B**), est un bacille Gram négatif (**figure 11A**), mobile grâce à un flagelle et possède une grande capacité d'adhésion cellulaire par l'intermédiaire de pili. Outre son extrême virulence, *B. cepacia* se coordine avec d'autres bactéries telles que *P. aeruginosa*. De cette co-infection résulte la formation de biofilms mixtes dans les poumons. La colonisation au travers de biofilms dans les poumons des personnes atteintes de fibrose kystique engendre dans 20% des cas une pneumonie nécrotique fatale dite « syndrome *cepacia* » (**figure 11C**).

L'un des problèmes majeurs associé à *B. cepacia* et la principale cause de mortalité est sa multi résistance aux traitements antibiotiques ainsi que son haut niveau de transmissibilité. Au regard de la virulence de *B. cepacia*, une étude approfondie a été réalisée.<sup>31</sup> L'ensemble des neuf souches est un groupe de bactéries caractérisées par un phénotype similaire, mais

---

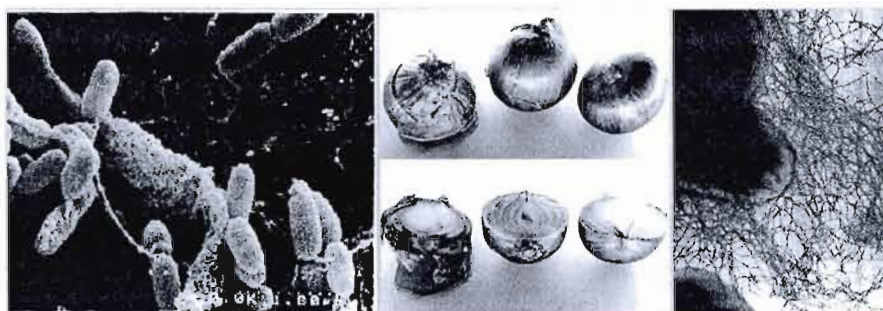
<sup>30</sup> Damerval S. et Roy, R. XIe Colloque Annuel des Étudiants-chercheurs en Chimie et en Biochimie de l'UQÀM, Montréal, publication : Sciences express. 2008, 7, 9.

<sup>31</sup> Fauré, R.; Shiao, T. C.; Damerval, S. and Roy, R. *Tetrahedron Lett.*, **2007**, 48, 2385-2388.

<sup>32</sup> Fauré, R.; Shiao, T. C.; Lagnoux, D.; Giguère, D. and Roy, R. *Org. Biomol. Chem.*, **2007**, 5, 2740-2708.

<sup>33</sup> Speert David, P. *Paediatr. Respiratory Rev.* **2002**, 3, 230-235

génotypement différents.<sup>34,35</sup> Un exopolysaccharide (EPS) commun à au moins huit des neuf souches, nommé Cepacian, observé au niveau des biofilms, dans la capsule bactérienne lié à un lipopolysaccharide est en effet, produit par cette bactérie dans le but de stabiliser leur structure tridimensionnelle, et donc s'implique dans la formation et la maturation des biofilms.<sup>36</sup>



**Figure 11 :** A) Scan de *B. cepacia* au microscope électronique. B) Pourriture du bulbe (gauche) d'oignon par *B. cepacia*. C) Biofilm et pili de *B. cepacia* dans les poumons des sujets atteints de FK.

## 2.4 LES EXOPOLYSACCHARIDES

La production d'exopolysaccharide (EPS) est reconnue en tant que facteur important dans la formation et la maturation de ces biofilms en stabilisant leur architecture tridimensionnelle.<sup>37</sup>

<sup>34</sup> Vermis, K.; Coenye, T.; Mahenthalingam, E.; Nelis, H.J.; Vandamme, P., *J. Med. Microbiol.*, **2002**, 51, 937-940.

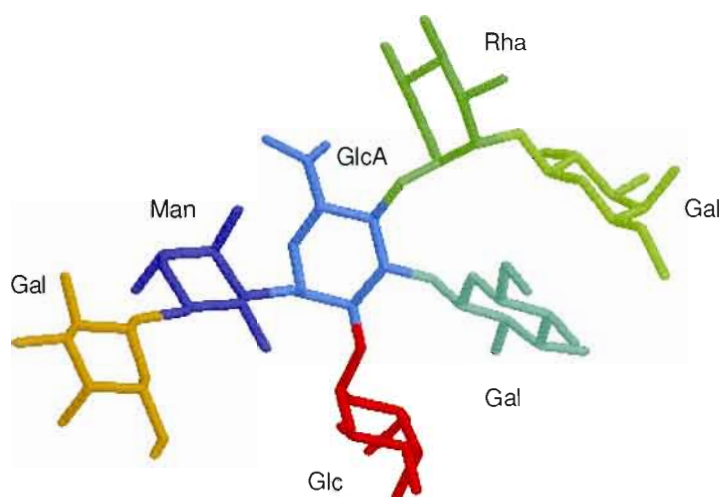
<sup>35</sup> Herasimenka, Y.; Cescutti, P.; Impallomeni, G.; Campana, S.; Taccetti, G.; Rabeen, N.; Zanetti, F.; Rizzo, R., *J. Cyst. Fibros.*, **2007**, 6, 145-152.

<sup>36</sup> Tomlin, K. L.; Coll, O. P.; Ceri, H., *Can. J. of Microbiol.* **2001**, 47, 949-954.

<sup>37</sup> Cunha, M. V.; Sousa, S. A.; Leitao, J. H.; Moreira, L. M.; Videira, P. A.; Sa-Correia, I. *J. Clin. Microbiol.* **2004**, 42, 3052-3058



L'exopolysaccharide capsulaire commun à huit des neuf souches, Cepacian, a subi une analyse conformationnelle tridimensionnelle (**Figure 12B et C**). Une séquence répétitive d'heptasaccharide a été déterminée, encapsulant la paroi bactérienne parmi les huit souches de *B. cepacia*. Ce motif répétitif heptasaccharique est formé de cinq types d'hydrates de carbone différents : un sucre central de l'acide  $\alpha$ -D-glucuronique tétraglycosylé, un sucre rare D-rhamnopyranose, le D-mannopyranose, le D-glucopyranose ainsi que trois D-galactopyranose aux extrémités du motif.<sup>38</sup>



**Figure 12 :** Modélisation moléculaire du motif de répétition du Cepacian.<sup>39</sup>

Les découvertes scientifiques récentes démontrent de plus en plus que la reconnaissance antigénique cellulaire se fait au niveau de l'hydrate de carbone présent à la

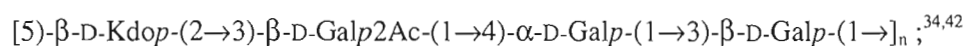
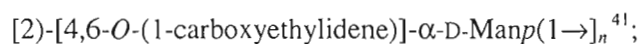
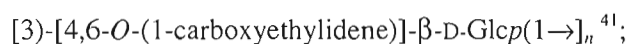
<sup>38</sup> Cescutti, P.; Bosco, M.; Picotti, F.; Impallomeni, G.; Leitão, J.H.; Richau, J.; Sá-Correia I.. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **2000**, 273, 1088-1094. Lagatolla, C.; Skerlavaj, S.; Dolzani, L.; Tonin, E.A.; Monti Bragadin, C.; Bosco, M.; Rizzo, R.; Giglio, L.; Cescutti, P. *FEMS Microbiol. Lett.*, **2002**, 209, 89-94. Cescutti, P.; Impallomeni, G.; Garozzo, D.; Sturiale, L.; Herasimenka, Y.; Lagatolla, C.; Rizzo, R. *Carbohydr. Res.* **2003**, 338, 2687-2695. Herasimenka, Y.; Benincasa, M.; Mattiuzzo, M.; Cescutti, P.; Gennaro, R.; Rizzo, R. *Peptides*. **2005**, 26, 1127-1132. Cescutti, P.; Scussolin, S.; Herasimenka, Y.; Impallomeni, G.; Bicego, M.; Rizzo, R. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **2006**, 339, 821-826. Bylund, J.; Burgess, L.A.; Cescutti, P.; Ernst, R.K.; Speert, D.P., *J. Biol. Chem.* **2006**, 281, 2526-2532.

<sup>39</sup> Modélisation moléculaire : en collaboration avec Brisson J.R. Dept. Sc. Bio. NRC Ottawa. Données non publiées.

paroi xénotique. Ainsi, la détermination et la synthèse de la structure d'oligosaccharide présente au niveau de la paroi bactérienne sont autant d'atouts pour la recherche au niveau de la chimie médicinale, de la biochimie ou de l'immunologie. En outre, le sucre rare, D-rhamnopyranose, qui est impliqué dans CBC ne se retrouve que dans le monde bactérien, ce qui renforce l'hypothèse de ce projet, dont la synthèse de fragments antigéniques de la cible CBC.

L'importance du D-rhamnopyranose est confirmée par sa présence non seulement dans le Cepacian mais également dans le lipopolysaccharide de la bactérien *B. cepacia*. Deux types de polysaccharides sont présents dans la O-chaîne de ce lipopolysaccharide, soit la répétition du trisaccharide majeur de l' $\alpha$ -D-Rhap-(1→3)- $\alpha$ -D-Rha-(1→4)- $\alpha$ -D-Galp, soit l' $\alpha$ -D-Rhap-(1→3)- $\alpha$ -D-Rha-(1→2)- $\alpha$ -D-Rhap, la séquence répétitive mineure.<sup>40,32</sup>

Malgré le haut niveau de la co-infection du CBC de *B. cepacia* et *P. aeruginosa*, une autre souche bactérienne a été découverte récemment, nommé *Inquilinus limosus*, sur la voie respiratoire de patients atteints fibrose kystique. Comme la reconnaissance de l'exopolysaccharide est un facteur important de la virulence, la structure primaire du polysaccharide a été le sujet d'une importante investigation afin de comprendre leurs rôles pathogéniques. Donc, de mélanges des deux polymères bactériens ont été déterminée par la méthode de méthylation, par la dégradation acide, par la spectrométrie de masse et par la spectroscopie RMN, comme suit :

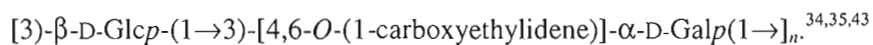
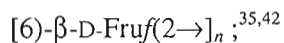



---

<sup>40</sup> Cérantola, S. and Montrozier, H. *Eu. J. Biochem.*, **1997**, 246, 360.

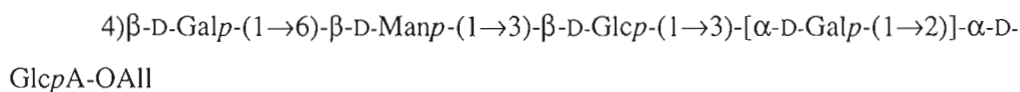
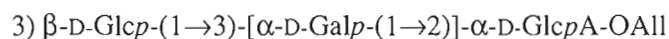
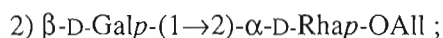
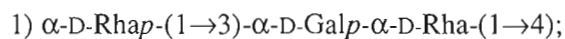
<sup>41</sup> Herasimenka, Y.; Cescutti, P.; Impallomeni, G. And Rizzo, R. *Carbohy. Res.*, **2007**, 342, 2404-2415.

<sup>42</sup> Sampaio Nogueira, C. E.; Ruggiero, J. R.; Sist, P.; Cescutti, P.; Urbani, R.; Rizzo, R., *carbohydr. Res.*, **2005**, 340, 1025-1037.



La recherche des déterminants antigéniques des ces motifs bactériens est présentement en cours.

En résumé, le CBC est le principal responsable de la mortalité associée à la fibrose kystique. Par conséquent, les cibles principales de la partie oligosaccharidique de ce projet se focalise sur la synthèse d'un trisaccharide présents dans le lipopolysaccharide et les motifs de l'heptasaccharide du CBC comprenant le disaccharide, le trisaccharide et le pentasaccharide, suivants :




---

<sup>43</sup> Sist, P.; Cescutti, P.; Skerlavaj, S. *et al.*, *Carbohydr. Res.*, **2003**, 338, 1861-1867.

## CHAPITRE III

### SYNTHESE DES FRAGMENTS CIBLES

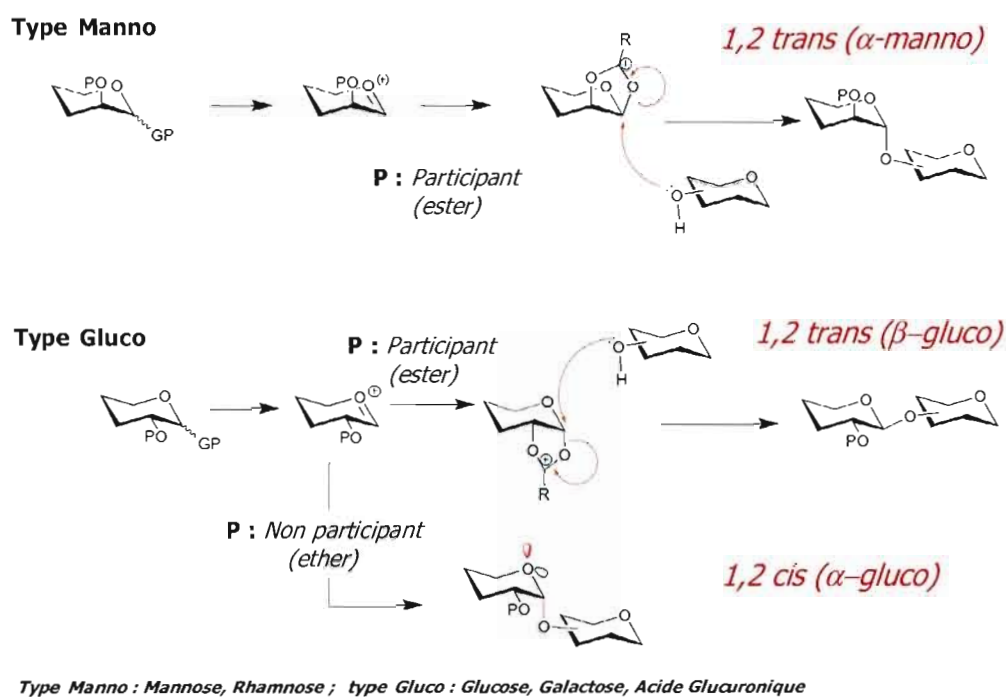
#### 3.1 INTRODUCTION

##### *3.1.1 Effets anomérique et anchimérique*

Contrairement à la synthèse organique classique, la synthèse des sucres est régie par deux effets prépondérants. L'effet anomérique est fonction de la structure même du sucre. Il existe deux types d'effet anomérique. D'une part, l'effet endo-anomérique fait intervenir la paire d'électrons non liant de l'oxygène endocyclique. Dans le cas où le groupement OH est axial, il s'opère un recouvrement favorable entre le doublet non liant de l'oxygène endocyclique et l'orbitale  $\sigma$  antiliante de la liaison C-O anomérique. Ce recouvrement stabilise l'anomère  $\alpha$  par rapport à l'anomère  $\beta$ . Une interprétation de cet effet met en jeu les interactions dipôle-dipôle et permet d'expliquer la déstabilisation de l'anomère  $\beta$  c.-à-d. le groupe anomérique en position équatoriale, du fait de l'alignement du dipôle de la liaison anomérique C-O et celui de l'oxygène endocyclique. D'autre part, l'effet exo-anomérique fait intervenir le doublet non liant de l'oxygène du groupement en position anomérique et l'orientation de ce dernier.

Une composante importante de la chimie des sucres concerne la maîtrise des étapes de protection et déprotection. Dans le cas de cette étude, cet aspect est d'autant primordial que l'heptasaccharide cible comporte une unité centrale tetraglycosylée, nécessitant par conséquent une orthogonalité des groupes protecteurs. L'effet anchimérique concerne la nature du groupement protecteur en position O-2. Si ce groupement est participant, soit de type acyle, lors d'une réaction de glycosidation en position anomérique, l'intermédiaire oxonium va subir l'assistance anchimérique du groupement en position deux et va former un intermédiaire acyloxy-carbenium. Cette étape bloque l'une des faces d'attaque du nucléophile.

De cette manière est obtenu un contrôle de l'anométrie, le lien obtenu est de type 1,2 trans.<sup>44,45</sup> Par contre, si le groupement en position deux est non participant, soit de type alkyle, l'effet anomérique est prépondérant. Il en résulte un lien de type 1,2 cis pour les sucres de la série D-gluco, soit une anomérie  $\alpha$ . Par contre, pour les sucres suivant les séries D-manno, un lien 1,2 cis est très largement défavorisé par l'effet anomérique. (Schéma 1)

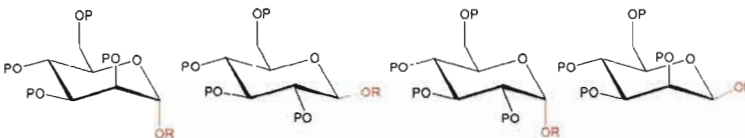



**Schéma 1 : Assistance anchimérique dans les séries D-Manno et D-Gluco**

Par conséquent, la difficulté pour former les liens de glycosidation dépendamment des effets anomériques et anchimériques peut se résumer ainsi (Tableau 1) :

<sup>44</sup> Wulff, G.; Rohle, G., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1974**, 13, 157-170

<sup>45</sup> Nukada, T.; Berces, A.; Zgierski, M. Z.; Whitfield, D. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, 120, 13291-13295



	$\alpha$ -manno	$\beta$ -gluco	$\alpha$ -gluco	$\beta$ -manno
Effet anomérique	+	-	+	-
Effet anchimérique	+	+	0	0
DIFFICULTE DE COUPLAGE CROISSANTE 				

**Tableau 1** : Influence des effets anomériques et anchimériques sur la formation de lien de glycosidation

### 3.1.2 Glycosidation vs Glycosylation

La prise en compte de l'importance de l'effet anomérique en ce qui concerne l'orientation des réactions et leur réactivité a pour conséquence la nécessité de protéger la position anomérique des sucres intervenant dans le schéma réactionnel. Le contrôle de cette position s'obtient par une réaction de glycosidation, en générale impliquée au cours de la première étape du processus de synthèse. Au contraire de la réaction de glycosylation qui sera détaillée un peu plus loin, une réaction de glycosidation est la mise en place d'un aglycone nucléophile (ROH, RSH) autre que le sucre. Puisque la finalité de la réaction est de figer la position anomérique, il est primordial de choisir la nature de l'aglycone en fonction de sa résistance et/ou faiblesse aux réactions impliquées dans le schéma synthétique. Il existe deux stratégies dans le choix du type d'aglycone. Dans un premier cas, l'aglycone est de type permanent, c'est-à-dire qu'il est installé de manière à résister à la totalité de la synthèse jusqu'à son implication finale dans une réaction de couplage pour permettre la mise en place de la partie peptidique et finaliser le vaccin. Appartenant à cette catégorie sont utilisés des groupements allyles ou propargyles. Dans un second cas, l'aglycone est de type semi-permanent (par exemple le *p*-methoxyphényle ou *p*-methoxybenzyle), c'est-à-dire qu'il possède une bonne résistance mais son utilisation dans le schéma synthétique est provisoire. Le recours à un tel groupement s'effectue essentiellement en cas de mauvais résultat ou d'incompatibilité réactionnelle lors de la mise en place des groupements permanents. Son

intérêt est contrebalancé par le nombre de réactions supplémentaires de déprotection et reprotection finale. Une alternative à ces deux étapes est la transglycosidation développée au point 3.1.4.

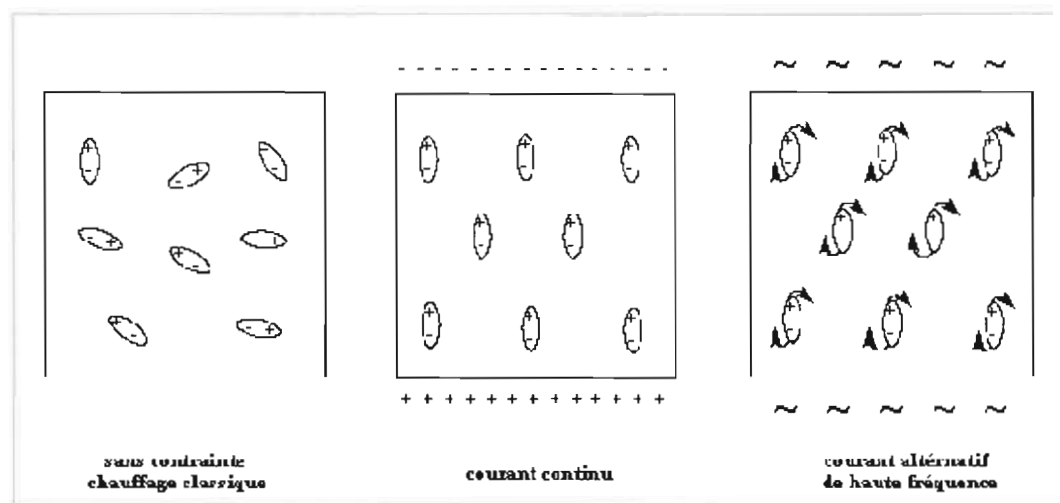
La protection de la position anomérique est souvent réalisée par la réaction de Fischer en catalyse acide. Traditionnellement, l'aglycone est utilisé sous forme liquide comme solvant de réaction. Cette méthode a pour inconvénient de longs temps de réaction à reflux, et il en résulte généralement des milieux réactionnels composés de plusieurs produits. Lors de cette réaction, cinq formes du sucre cohabitent en équilibre (**Schéma 2**). Bien que le produit thermodynamique majoritaire final soit l'anomère  $\alpha$ , la similarité des produits secondaires complexifie la séparation des produits et entraîne une baisse des rendements. Il est donc primordial d'établir des conditions réactionnelles optimales en terme de temps de réaction, de quantité de réactifs, de traitement et de purification du mélange et permettant une meilleure sélectivité dans l'obtention de l'anomère souhaité.

Une voie alternative à la glycosidation de Fischer traditionnelle est son adaptation au four micro ondes. Cette technique de plus en plus explorée dans la chimie des sucres s'accorde parfaitement au cahier des charges de la réaction de glycosidation. L'irradiation à microondes est une irradiation électromagnétique dont la fréquence opératoire en laboratoire est 2.45 GHz soit une longueur d'onde de 12.24 cm. Les effets de chauffage diélectrique à micro onde permettant un chauffage efficace du matériel réactionnel chimique forment la base de cette chimie en expansion. Ce phénomène est tributaire de la capacité d'un matériel spécifique (solvant ou réactif) à absorber l'énergie des micro-ondes et de la transformer en chaleur car l'énergie seule du photon émis à la fréquence opératoire (0.0016 eV) est intrinsèquement trop faible pour briser des liaisons covalentes et même trop basse pour induire un mouvement Brownien. La composante électrique d'un champ électromagnétique cause le chauffage par deux mécanismes principaux: la polarisation dipolaire et la conduction ionique<sup>46</sup> (Figure 13). L'irradiation de l'échantillon à des fréquences micro-ondes induit alors un alignement des dipôles ou des ions dans le champ électrique appliqué. Quand ce champ oscille, le champ dipolaire ou ionique se réaligne avec le champ électrique alternatif. C'est au cours de ce processus que de l'énergie est perdue sous forme de chaleur par friction

---

<sup>46</sup>[www.unilim.fr/theses/2002/sciences/2002limo0025/images/image26.gif](http://www.unilim.fr/theses/2002/sciences/2002limo0025/images/image26.gif)

moléculaire et pertes diélectriques. La quantité de chaleur générée ainsi est directement liée à la capacité de la matrice de s'aligner sur la fréquence du champ appliqué. En effet, dans le cas d'un réalignement trop rapide ou incomplet, aucune chaleur n'est produite, scénario évité avec l'utilisation de la fréquence de 2,45 GHz.<sup>47</sup> Il est important de noter que la polarité du solvant utilisé a donc une grande influence sur l'efficacité du procédé, ce qui dans le cas d'une glycosidation de Fischer idéal par l'utilisation d'alcool ou de thiol comme solvant. L'avantage de cette technique comparativement au chauffage dans bain d'huile usuel réside dans sa rapidité d'exécution, la quantité d'énergie apportée contrôlée et réduite grâce à l'abaissement de l'énergie de l'état de transition. Il en résulte des réactions reproductibles et efficaces permettant de générer dans un court laps de temps une bibliothèque de nouveaux composés, ce qui est particulièrement appréciable en chimie thérapeutique.



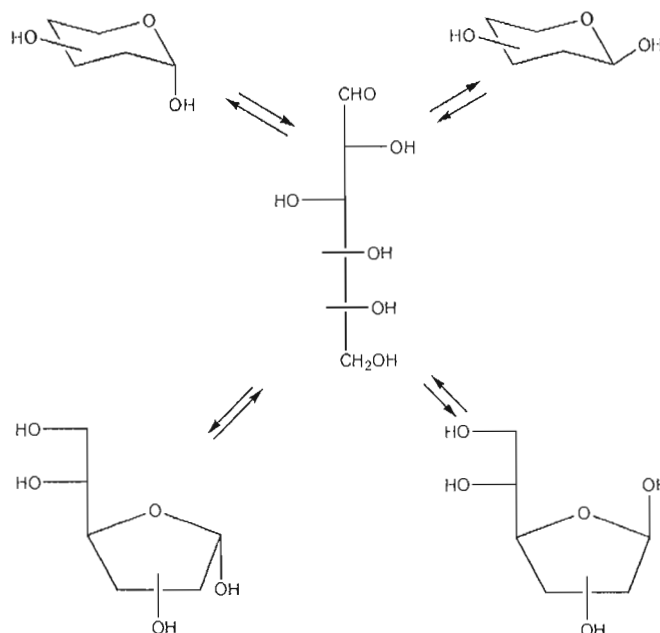
**Figure 13** : Comportement des dipôles soumis à un champ électrique

Dans le cas de la réaction de Fischer, un mode opératoire a été mis en place, qui nécessite un temps de réaction très limité (10 minutes contre plusieurs heures en reflux), l'emploi de résine Amberlite comme agent acide et une quantité réduite de solvant alcoolisé ramène le traitement à une simple filtration suivie d'une concentration sous pression réduite. Enfin, la propreté du mélange réactionnel dû aux principaux effets sus mentionnés conduit

<sup>47</sup> Kappe, C.O., Angw. Chem. Int. Ed. 2004, 43, 6250



généralement à une recristallisation possible comme mode de purification. Enfin, la douceur relative de ce procédé a permis de réaliser pour la première fois la glycosidation de l'acide D-glucuronique libre avec l'alcool allylique et de s'affranchir à l'avenir des méthodes alternatives et alambiquées proposées par la littérature pour obtenir une molécule similaire.

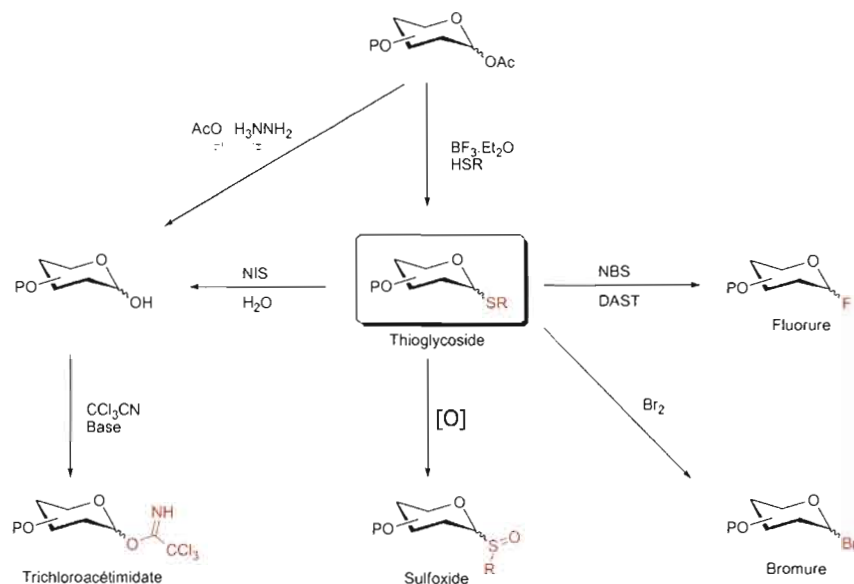


**Schéma 2 : Equilibre des produits de la glycosidation de Fischer**

### 3.1.3 Principaux donneurs utilisés lors des glycosylation

La réaction de glycosylation fait intervenir dans la chimie des sucres un sucre glycosylé ou accepteur et un sucre donneur de glycosyle. L'accepteur possède au moins une fonction hydroxyle libre sur laquelle se crée le nouveau lien dit de glycosylation. Le donneur de glycosyle possède en position anomérique un groupe partant, dont le départ est activé par un promoteur, généralement de type acide de Lewis. Plusieurs paramètres influencent le succès d'une telle réaction. D'une part les effets anchimériques et anomériques comme vu précédemment vont induire et diriger l'anomérisation du lien créé. Mais la nature du promoteur, du donneur ainsi que les effets « armé-désarmé » liés à la nature du groupement protecteur situé en position 2 sont les autres facteurs à contrôler lors d'une réaction de glycosylation.

Plusieurs donneurs sont traditionnellement utilisés en chimie des carbohydrates tels que les bromures, les thioglycosides et les imidates. Les bromures sont cependant plus sujets à l'hydrolyse et moins stable que leurs analogues thiolés et imidates. Le présent travail a favorisé l'utilisation des imidates qui bien que réactifs sont suffisamment stables pour être conservés et utilisés dans les chromatographie sur silice. La réactivité des imidates est par ailleurs telle que les temps de glycosylation ont été drastiquement réduits (de l'ordre de deux heures). Certaines configurations réactionnelles défavorisées (synthèse de  $\beta$ -mannosides, de liens  $\alpha$ -(1-2) ou  $\alpha$ -(1-4) dans les séries D-galacto, problème de solubilité...) requièrent toutefois l'usage de donneurs moins communs tels que les sulphoxydes ou phényl sélénium qui sont synthétisables à partir d'analogues thiolés *via* un processus d'interconversion tel qu'indiqué dans le **Schéma 3**.



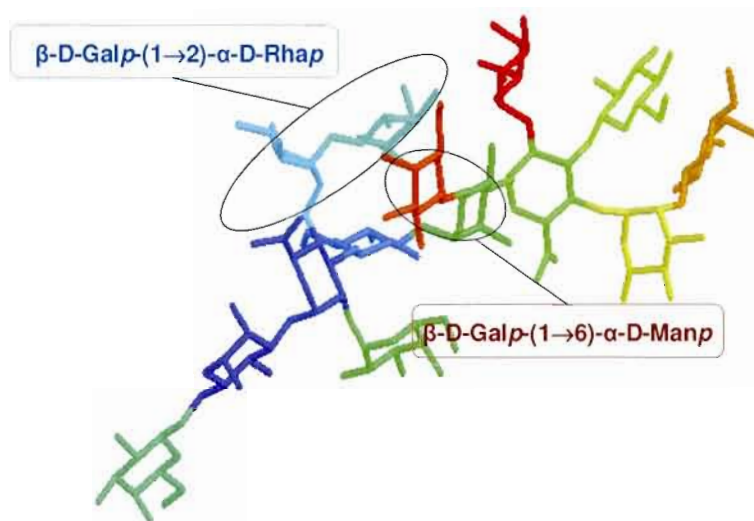
**Schéma 3 :** Versatilité des donneurs utilisés dans la chimie des sucres

Enfin, il est important d'étudier les effets « armé-désarmé ».<sup>48</sup> Ceux-ci concernent l'influence de la nature électronique donneur/attracteur des groupements protecteurs en

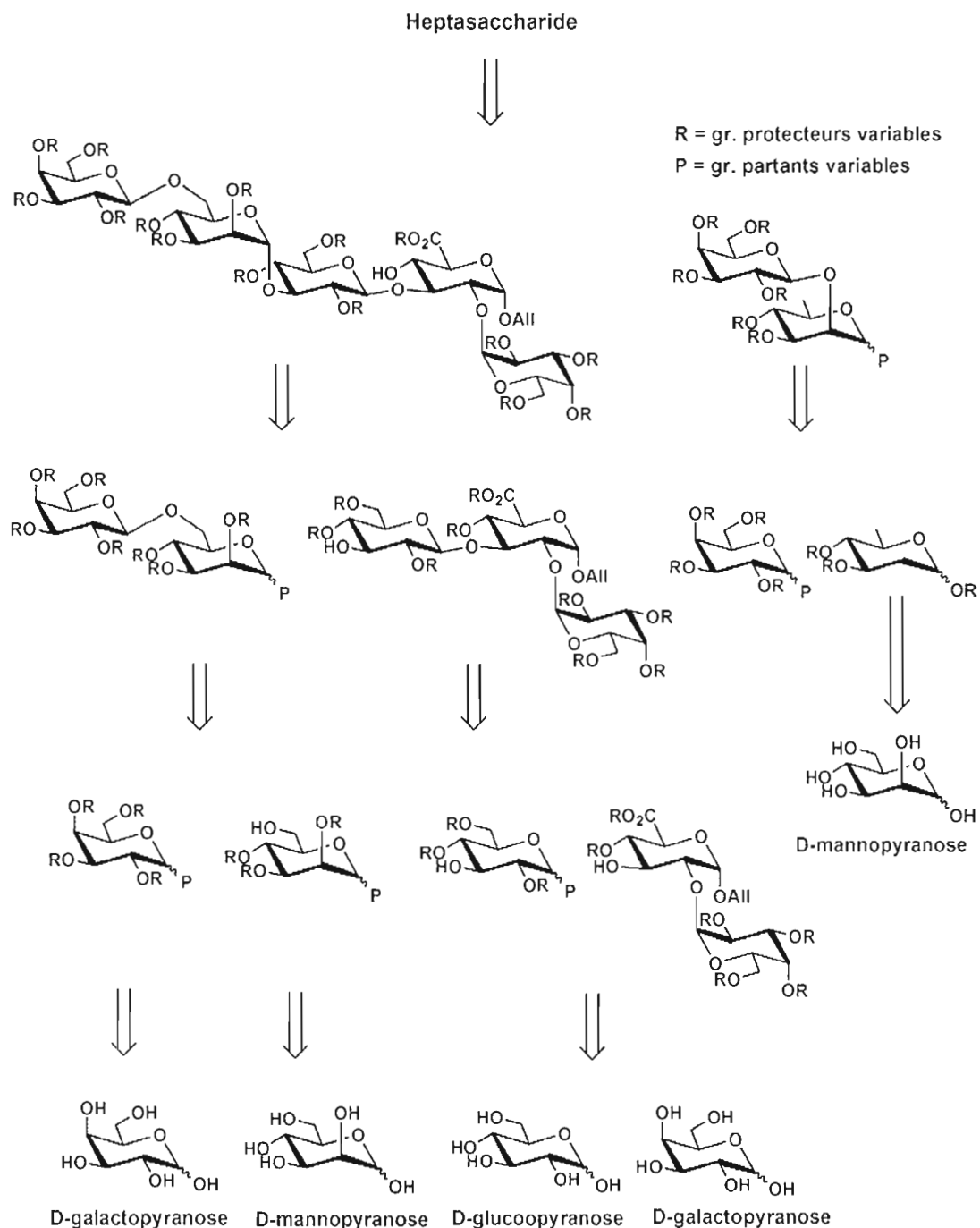
<sup>48</sup> Mootoo, D. R.; Date, V.; Fraser-Reid, B. O. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 2662-2663



L'analyse conformationnelle du Cepacian a mis en évidence une proximité spatiale entre le disaccharide  $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -D-Rhap et l'unité galactosidique mis en jeu dans le disaccharide  $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 6)- $\alpha$ -D-Manp (**Figure 15**). Pour satisfaire à cette caractéristique spatiale, laquelle pourrait avoir un impact sur les interactions immuno chimiques, il a semblé opportun de se concentrer non pas sur le motif initial représenté sur le figure **14 A**) mais sur le motif représenté en figure **14 B**). De cette manière, la difficulté d'un des couplages dits « difficiles » est contournée lors d'une première étape de glycosidation tout en conservant les autres liens dits « faciles ».



**Figure 15** : Proximité spatiale de fragments saccharidiques du Cepacian<sup>39</sup>

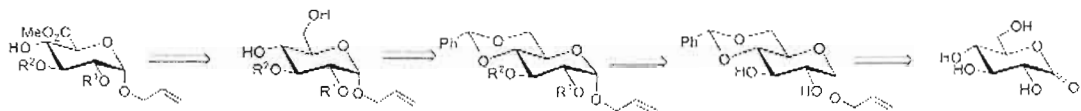


**Schéma 4 :** Analyse rétrosynthétique de l'heptasaccharide du Cepacian

La synthèse du motif heptasaccharidique du Cepacian s'articule autour d'une synthèse par blocs, requérant ainsi un nombre minime d'étapes linéaires. Le motif clé est le

trisaccharide central comportant un disaccharide de type laminaribioside indiqué sur le **Schéma 4**.

Tout d'abord, le but poursuivi est l'élaboration d'une stratégie générale de synthèse de dérivés de l'acide D-glucuronique à partir du D-glucose avec un minimum de synthons intermédiaires, et dont chaque substituant ou groupe protecteur serait indépendant des autres. La stratégie vise à employer une progression similaire, qu'il s'agisse de protéger orthogonalement l'acide D-glucuronique ou de former des liens glycosidiques, intervenant dans la synthèse des oligosaccharides cibles tel qu'illustré au **Schéma 5**.

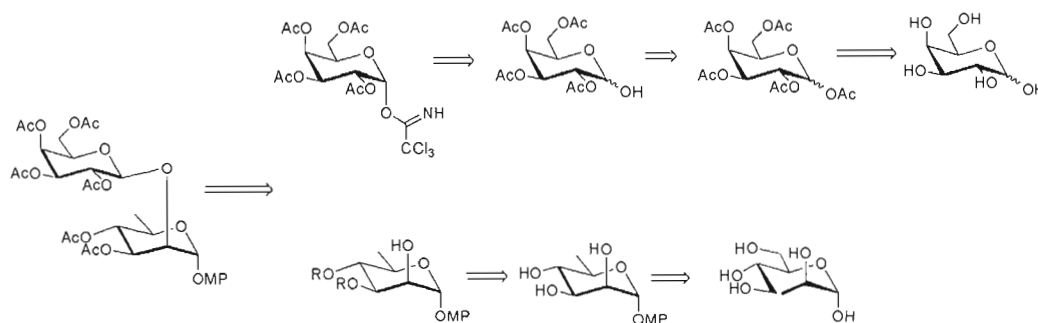


**Schéma 5** : Analyse rétrosynthétique des dérivés de l'acide D-glucuronique orthogonalement protégés

Cette rétrosynthèse débute par une oxydation sélective de l'alcool primaire de la position 6 d'un glucoside laissant ainsi la fonction hydroxyle en position 4 libre d'être glycosylée. Cette stratégie repose préalablement sur la protection des positions *O*-2 et/ou *O*-3, par des groupements protecteurs orthogonaux ou la glycosylation préalable d'une ou de ces deux positions. Un intermédiaire clé est alors le précurseur **1** dont les positions 4 et 6 sont protégées par un *O*-benzylidène. Le choix de la protection de la position anomère par un groupement allyle s'articule autour de plusieurs facteurs, telle que sa stabilité envers de nombreuses conditions de protection/déprotection utilisées en chimie des sucres et les possibilités accrues de fonctionnaliser cette position, permettant un couplage futur avec la

partie protéique du vaccin.<sup>49,50,51,52</sup> L'anométrie  $\alpha$  de l'acide D-glucuronique est respectée par rapport à la structure du Cepacian.

La synthèse du trisaccharide central nécessite une connaissance de la réactivité relative des glycosylations de l'un ou l'autre disaccharide impliqué dans ce trisaccharide. La synthèse du laminarioside fait intervenir un synthon commun au donneur et accepteur de glucosyle, protégé sous forme de benzylidène. Concernant la synthèse du disaccharide  $\alpha$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -D-Glc pA, deux stratégies sont comparativement testées avec d'une part, l'utilisation du synthon glucosidique précurseur d'acide glucuronique et d'autre part, l'utilisation directe de l'acide glucuronique (**Schéma 4**).



**Schéma 6 :** Analyse rétrosynthétique pour l'obtention du motif  $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -D-Rhap

Enfin, la synthèse du disaccharide cible est obtenue suite à une réaction de glycosylation entre un galactosyle donneur et un rhamnosyle accepteur, dont la position 2 seule est non protégée ; chacun étant obtenu respectivement en trois et six ou dix étapes, selon la nature de l'accepteur, à partir du D-galactose et du D-mannose (**Schéma 6**).

<sup>49</sup> Mori, T.; Hatano, K.; Matsuoka, K.; Esumi, Y.; Toone, E. J.; Terunuma, D. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 2751-2760

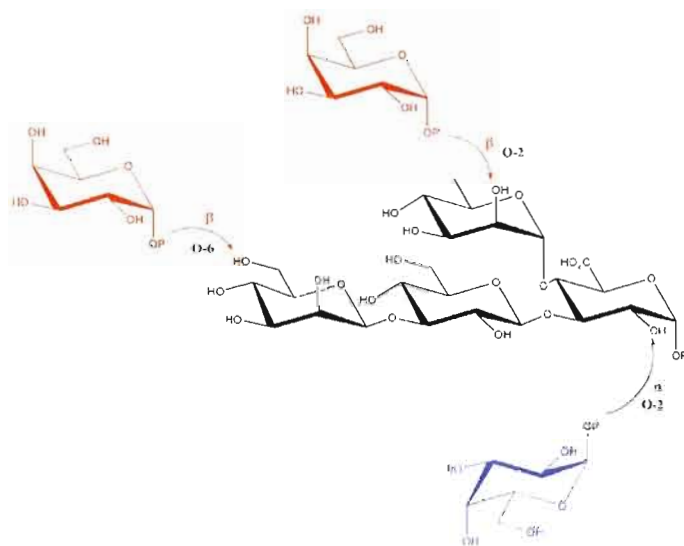
<sup>50</sup> Ramos, D.; Rollin, P.; Klaffke, W. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2948-2956

<sup>51</sup> Roy, R.; Baek, M.-G.; Rittenhouse-Olson, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1809-1816

<sup>52</sup> Van Seeventer, P. B.; Van Dorst, J. A. L. M.; Siemerink, J. F.; Kamerling, J. P.; Vliegthart, J. F. *G. Carbohydr. Res.* **1997**, *300*, 369-373

### 3.3 SYNTHÈSE DE RÉSIDUS D-GALACTOPYRANOSIDES

Les résidus D-galactopyranosides sont impliqués à trois niveaux dans la synthèse du Cepacian. Agissant en tant que donneurs, il a d'abord été envisagé d'un point de vue stratégique, d'effectuer au terme de la synthèse trois glycosylations simultanées « one-pot » faisant intervenir les galactosides donneurs. Cette approche est néanmoins mise en suspend pour privilégier la réalisation de petites unités saccharidiques permettant la mise au point des conditions de glycosylations propres à chaque disaccharides. Une fois ces conditions établies, l'estimation de leur compatibilité reste à effectuer. En effet, les liens de ces trois glycosylations sont de nature différentes et les accepteurs et les positions à glycosyler de réactivités différentes comme indiqué sur le **Schéma 7**. Ainsi, le présent travail se concentre sur la synthèse de résidus D-galactosides impliqués dans une stratégie disaccharidique.



**Schéma 7 : Stratégie de convergence par glycosylations simultanées**

Le donneur choisi est de type imidate parmi les autres donneurs potentiels référencés dans le schéma 3. Tout d'abord, une per-O-acétylation quantitative est effectuée au milieu basique, en utilisant de l'anhydride acétique et de la pyridine comme solvants, en présence



d'un catalyseur DMAP selon la méthode de Behrend.<sup>53</sup> A partir du D-galactopyranose, le pentaacétate **29'** est obtenu dans un mélange d'anomères (Schéma 8). En effet, à température ambiante, l'effet thermodynamique domine, c'est-à-dire que l'effet anomérique est majoritairement prédominant. Par ailleurs, ce mélange d'anomères ne cause pas généralement de problèmes pour la synthèse suivante. Cependant, une régiosélectivité peut être obtenue en faveur de l'anomère  $\beta$  selon la méthode Wolfrom et Thompson<sup>54</sup> en jouant sur l'encombrement stérique. En effet, c'est une réaction exothermique, en présence d'acétate de sodium dans de l'anhydride acétique à reflux. L'effet cinétique est alors prépondérant, donc le  $\beta$  acétate **29'** est majoritairement isolé après la cristallisation dans de l'éthanol absolu.

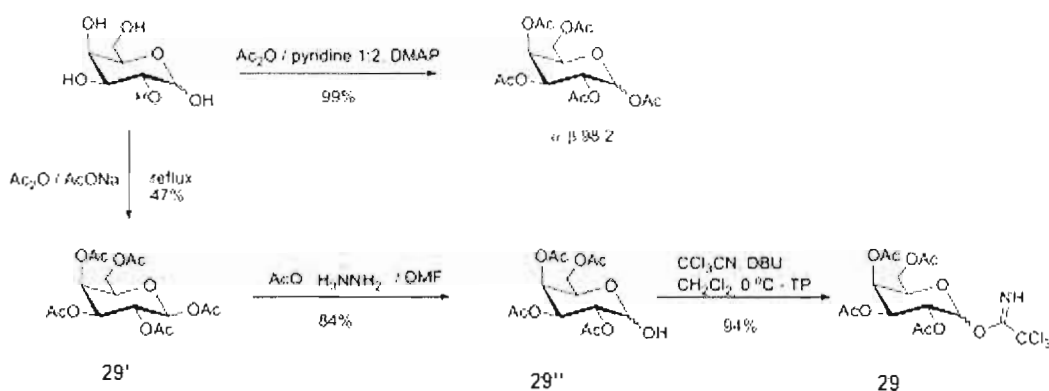


Schéma 8 : Synthèse du donneur D-galactoside de type trichloroacétimide.

Afin de convertir l'acétate anomère en donneur imide, réactif de Schmidt, la déprotection sélective de l'acétate **29b'** est réalisée par l'acétate d'hydrazine dans du DMF

<sup>53</sup> Behrend, R.; Osten, H., *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1905**, 343, 133-151.

<sup>54</sup> Wolfrom, M. L. and Thompson, A., *Method. Carbohydr. Chem.*, **1963**, 211-215.

pour former l'hémiacétal **29''**.<sup>55,56</sup> Il s'agit d'un réactif sélectif pour l'acétal anomérique, car cet acétal est plus susceptible à l'attaque nucléophile que les autres positions. En plus, le prototropisme de l'acétate d'hydrazine entraîne la formation d'un zwitterion qui explique l'attaque exclusive de l'azote en extrémité sur le carbone du carbonyle du groupement protecteur ester pour former l'hémiacétal correspondant **29''**.<sup>57</sup> L'hémiacétal **29''** est ensuite converti en imidate dans du dichlorométhane par le réactif trichloroacétonitrile en présence de DBU utilisé comme une base encombrée qui est avantageuse de donner majoritairement une configuration en «  $\alpha$  ». <sup>58</sup>

Ce réactif de Schmidt possède un avantage par rapport au donneur thioglycoside (**Schéma 9**), de par sa nature chimique mais non pas sur la facilité de sa conversion en autres donneurs, illustrés au **Schéma 3**. En effet, cet imidate est relativement stable face à l'hydrolyse, facile à préparer et à purifier. De plus, une conservation à long terme (sous la forme cristalline) est possible. Ensuite, l'activation est rapide devant une variété d'acides de Lewis, largement utilisé comme TMSOTf ou  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ; enfin, la préparation sélective de  $\alpha$ - ou  $\beta$ -imidate peut être contrôlée par le choix de bases,  $\text{K}_2\text{CO}_3$  pour un  $\beta$ -imidate et une configuration en «  $\alpha$  » en utilisant NaH/DBU. Finalement, d'un point vu synthétique, l'utilisation de l'imidate comme le donneur pour la glycosylation donne généralement de très bons rendements.<sup>59</sup>

Pour autant, l'utilisation du groupement protecteur thiolé comme donneur n'est pas occultée. Sa stabilité face aux différentes réactions de protection et déprotection permettant son installation en début de synthèse et sa réactivité lors de la réaction de glycosylation en font un donneur de choix. Cependant, contrairement aux donneurs imidate, son activation nécessite un co-promoteur, outre l'acide de Lewis tel que le réactif iodure comme l'iodosuccinimide (NIS)<sup>60</sup>, l'iodonium dicollidine perchlorate (IDCP) et autres (MeOTf ou

<sup>55</sup> Excoffier, G.; Gagnaire, D.; Uille, J.-P., *Carbohydr. Res.*, **1975**, 39, 368-373.

<sup>56</sup> Numata, M.; Sugimoto, M.; Koike, K.; Ogawa, T., *Carbohydr. Res.*, **1987**, 163, 209-225.

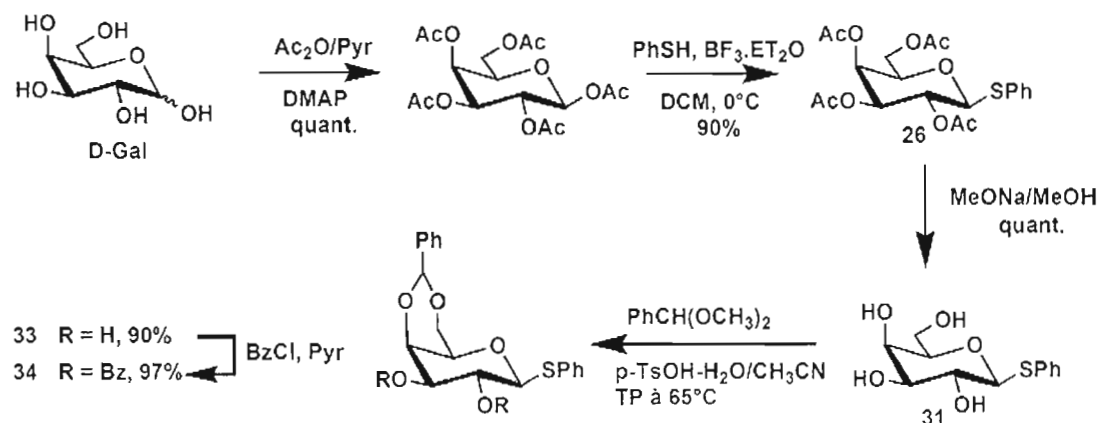
<sup>57</sup> Excoffier, G.; Gagnaire, D.; Uille, J. P., *Carbohydr. Res.* **1975**, 39, 368-373.

<sup>58</sup> Cheng, H. *et al.*, *J. Med. Chem.*, **2005**, 48, 645-652.

<sup>59</sup> Schmidt, R. R.; Kinzy, W., *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **1994**, 50, 21-123.

<sup>60</sup> Fügedi, P.; Garegg, P. J.; Lönn, H.; Norberg, T., *J. Glycoconjugate*, **1987**, 4, 97-108.

DMTST)<sup>61</sup> ou les réactifs spéciaux : 1-benzènesulfinyl pipéridine (BSP)/Tf<sub>2</sub>O élaboré par Crich et al.<sup>62</sup> ; Ph<sub>2</sub>SO/Tf<sub>2</sub>O par Van des Marel et al.<sup>63</sup>. Deux étapes d'activation au lieu d'une procèdent donc par rapport au groupement imidate.



**Schéma 9 : Synthèse du 2,3-di-O-benzoyl-4,6-benzylidène- $\alpha$ -D-galactopyranoside de thiophényle 34**

Plusieurs types de groupements thiolés ont été synthétisés au cours de ce projet dans le but d'établir une bibliothèque de donneurs et de comparer leur réactivité (**Schéma 10**).

<sup>61</sup> Ravindranathan, Kartha, K. P.; Aloui, M.; Field, R. A., *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 29, 5175-5178.

<sup>62</sup> Crich, D.; Smith, M., *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 9015-9020.

<sup>63</sup> Codee, J. D.; Litjens, R. E. J. N.; den Heeten, R.; Overkleeft, H. S.; van Boom, J. H.; van der Marel, G. A., *J. Org. Lett.*, **2003**, 5, 1519-1522.

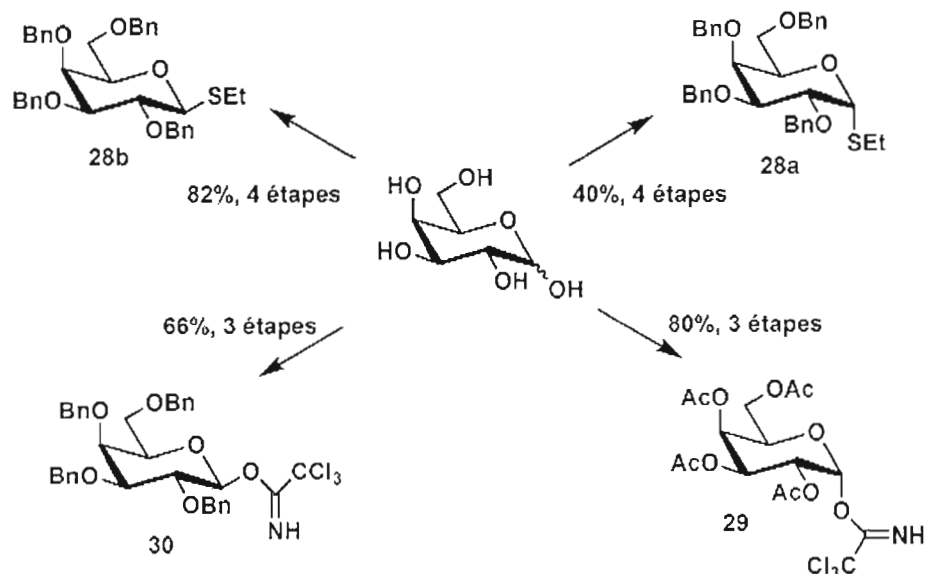


Schéma 10 : Galactosides donneurs

Les groupements thiophényles sont les donneurs les moins performants et nécessitent souvent le passage par un sulfoxyde *via* une réaction d'oxydation au mCPBA. Ce dernier s'active par l'effet des doublets de l'oxygène que possède le sulfoxyde. Dans le cadre de cette étude, ces donneurs ont toutefois été utilisés tels quels.

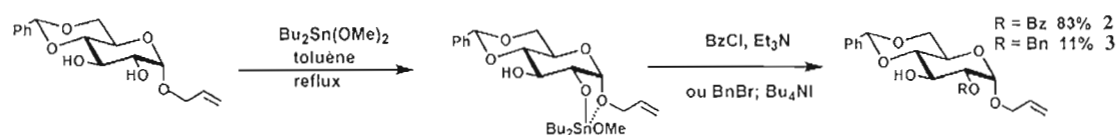
Le thioéthyle glycoside donneur, par sa petite taille, est plus réactif encore que le phénylsulfoxyde. Une sélectivité  $\alpha/\beta$  n'a pas été obtenue dans la synthèse de ce donneur contrairement à celle observée pour le thiophényle. Ceci provient de l'activation rapide par l'acide de Lewis  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  utilisé. Ainsi, le groupement thioéthyle attaque sans attendre la formation d'acetoxycarbenium, c'est-à-dire la participation anchimérique, donc un mélange de  $\alpha/\beta$  avec un ratio de 1 : 1 est obtenu avec un rendement de 82% (Schéma 9).

### 3.4 SYNTHÈSE DE RÉSIDUS D-GLUCOPYRANOSIDES

Les résidus D-glucopyranosides sont impliqués dans deux unités saccharidiques du Cepacian. Exploitant une stratégie précédemment initiée dans ce projet, l'utilisation d'un

synthon de départ de type benzylidène acétal commun à chacun des glucosides permet de s'affranchir de la fonction acide carboxylique de l'acide glucuronique et ainsi de limiter le nombre d'étapes linéaires. Cette stratégie s'accorde également au schéma stratégique global intégrant non plus la synthèse de disaccharides isolés mais de ceux dont l'orthogonalité autorise l'accès aux fragments tri-, tetra-, et pentasaccharidiques. Cette orthogonalité, reposant sur un choix judicieux de groupements protecteurs compatibles entre eux, représente le véritable défi synthétique et stratégique de la synthèse des glucosides.

Au niveau de la stratégie de synthèse d'orientation diasaccharidique initiale, la synthèse de l'accepteur glucosidique précurseur de l'acide glucuronique procède comme suit.



**Schéma 11** : Synthèse du glucoside accepteur

Le glucoside **1** est régiosélectivement benzoylé, *via* un intermédiaire de type stannylidène (**Schéma 11**). Le composé **1** traité par une quantité stoechiométrique de diméthoxyde de dibutylétain,<sup>64</sup> forme un intermédiaire de type acétal mixte d'étain, qui permet d'augmenter la nucléophilie de l'oxygène du groupement hydroxyle en position 2. La caractéristique de l'étain est la rétrodonation électronique suivant un déplacement électronique de l'orbital  $\sigma$  de l'oxygène plus nucléophile vers l'orbital  $d$  d'étain suivi d'un retour vers le  $\sigma^*$  de l'autre oxygène complexé dans l'intermédiaire stannylidène ; en conséquence une inversion nucléophilique se produit. L'équilibre de la réaction est déplacé en faveur de cet intermédiaire d'étain par l'élimination du méthanol, généré dans le milieu réactionnel, en utilisant un montage de type Dean-Stark. Cet intermédiaire réagit alors avec le chlorure de benzoyle et permet d'obtenir uniquement le dérivé mono-benzoylé **2** en position *O*-2 avec un

<sup>64</sup> Boons, G. J.; Castle, G. H.; Clase, J. A.; Grice, P.; Ley, S. V.; Pinel, C. *Synlett* **1993**, 913-914

rendement de 83% et qui sera utilisé ultérieurement comme accepteur de glucosyle lors d'une glycosylation. En analyse RMN  $^1\text{H}$ , la protection sélective de la position 2 par un groupement benzoyle s'observe grâce au signal doublet dédoublé du proton *H*-2 ( $\delta = 5.04$  ppm), qui est déplacé à champ faible et dont la multiplicité est simplifiée. Les autres signaux restent relativement semblables à ceux du composé **1**, notamment celui du proton *H*-3.

Afin de préparer un autre accepteur de glucosyle, théoriquement plus réactif que le glucoside **2**, le même protocole a été utilisé pour la synthèse du dérivé **3**, régiosélectivement benzylé en position *O*-2. Cependant, l'absence d'interactions entre l'intermédiaire d'étain et le réactif de protection, comme c'est potentiellement le cas avec le chlorure de benzoyle, ainsi que la réactivité différente du bromure de benzyle, semblent influencer le devenir de la réaction car il n'a été possible d'isoler le composé **3** qu'avec un rendement de 11% (**Schéma 11**). On isole également le mélange du composé **3** et de son isomère de position dans un ratio d'environ 1:1 avec 40% de rendement. L'utilisation d'un autre réactif, l'oxyde de dibutylétain, n'a pas permis de contourner le problème.<sup>65</sup> L'analyse RMN  $^1\text{H}$  permet d'observer la protection sélective de la position 2 par le benzyle grâce au signal doublet dédoublé du proton *H*-2 ( $\delta = 3.52$  ppm) les autres signaux restent relativement semblables à ceux du composé **1**.

La synthèse du glucoside donneur de type trichloroacétimide a été effectuée par une procédure en trois étapes à partir du D-glucose qui exigeait seulement une purification finale.<sup>66</sup>

La per-*O*-acétylation du D-glucose est effectuée dans un mélange anhydride acétique/pyridine en présence d'une quantité catalytique de 4-diméthylaminopyridine (DMAP), qui joue le rôle de catalyseur nucléophile. Lors de la per-*O*-acétylation, l'alcool nucléophile s'additionne sur le groupement carbonyle de l'anhydride acétique. La pyridine permet de capter le proton de l'alcool, ce qui crée un intermédiaire tétraédrique instable car l'atome de carbone triangulaire ( $\text{sp}^2$ ) du groupe carbonyle change d'hybridation pour devenir

---

<sup>65</sup> Qin, H.; Grindley, T. B. *J. Carbohydr. Chem.* **1996**, *15*, 95-108

<sup>66</sup> Penverne, C.; Ferrieres, V. *J. Chem. Educ.* **2002**, *79*, 1353-1354

sp<sup>3</sup>, entraînant le départ d'un groupement acétate. Le rôle du DMAP étant de former un intermédiaire acyle pyridinium encore plus réactif.

La désacétylation hautement sélective de la position anomère est accomplie par traitement avec la morpholine à reflux dans le dichlorométhane pendant 15 h. L'attaque du doublet de l'azote cyclique de la morpholine s'effectue sélectivement sur le carbone du carbonyle du groupement protecteur anomérique car plus électrophilique.

L'acétate d'hydrazine a seulement été utilisé pour la déprotection anomérique du glucose per-*O*-acétylé.<sup>67</sup> Cependant, une durée de réaction excédant 15 min conduit à la dégradation du produit et à la formation de sous produits, ce qui semble indiquer une déprotection progressive de toutes les autres positions. Cette réaction étant plus rapide qu'avec la morpholine, il est envisagé dans une perspective d'optimisation de reprendre la synthèse en trois étapes de l'accepteur de glucosyle en utilisant l'acétate d'hydrazine lors de cette étape.

L'activation de la position anomère consiste en une addition base-catalysée de l'hydroxyle anomère sur le trichloroacétonitrile pour générer le *O*-glucosyl trichloroacétimide donneur. Théoriquement, l'utilisation du carbonate de potassium comme base, permet uniquement la formation du produit cinétique d'anomérisation β, plus réactif, ce qui est souhaitable pour l'étape suivante de glycosylation. Cependant, après 3.5 h à 40°C, on obtient le composé **8** dans un ratio α/β (produit thermodynamique/produit cinétique) d'environ 7 : 4, avec un rendement de 44% pour les trois étapes. L'analyse RMN <sup>1</sup>H fournit trois signaux caractéristiques de la synthèse du mélange d'anomères de trichloroacétimides. Le proton H-1 de l'anomère α, caractérisé par une faible constante de couplage ( $J_{1,2} = 3.6$  Hz), a un déplacement chimique de 6.57 ppm, tandis que celui correspondant à l'anomère β possède un déplacement chimique de 5.88 ppm et une forte constante de couplage ( $J_{1,2} = 7.7$  Hz). La formation du trichloroacétimide est également caractérisée par la présence de deux singulets correspondant aux groupements NH ( $\delta_\beta = 8.73$  ppm,  $\delta_\alpha = 8.70$  ppm).

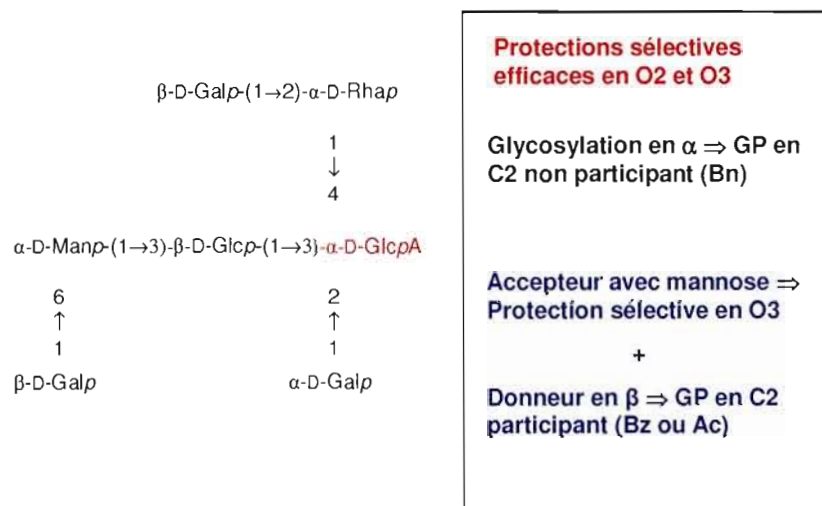
---

<sup>67</sup> Excoffier, G.; Gagnare, D.; Utile, J. P. *Carbohydr. Res.* **1975**, 39, 368-373

Il est important de neutraliser l'acidité de la silice avant de purifier le trichloroacétimide car ce composé est labile en milieu acide. Il est également judicieux d'éviter toute trace d'amine afin de prévenir une réaction acide/base de Lewis entre la triéthylamine résiduelle et le promoteur lors de la glycosylation.

D'autres procédures ont été envisagées afin de préparer le dérivé **8** sélectivement d'anométrie  $\alpha$ , pour étudier la réactivité du donneur lors de la réaction de glycosylation. L'utilisation de l'hydruire de sodium dont le composé cinétique est l'anomère  $\alpha$  souhaité, ne peut être envisagé lors de cette synthèse étant donnée la présence de groupements protecteurs de type esters. Le 1,8-diazabicyclo[5-4-0]undéc-7-ène (DBU), seul, qui permet, sans cet inconvénient, d'obtenir principalement l'isomère  $\alpha$  est envisagé pour remplacer le carbonate de potassium.<sup>68</sup>

Cependant, la synthèse de ces deux unités glucosidiques ne s'intègre pas à la stratégie globale d'obtention d'oligosaccharides complexes comme cela est indiqué dans la **Figure 16**.

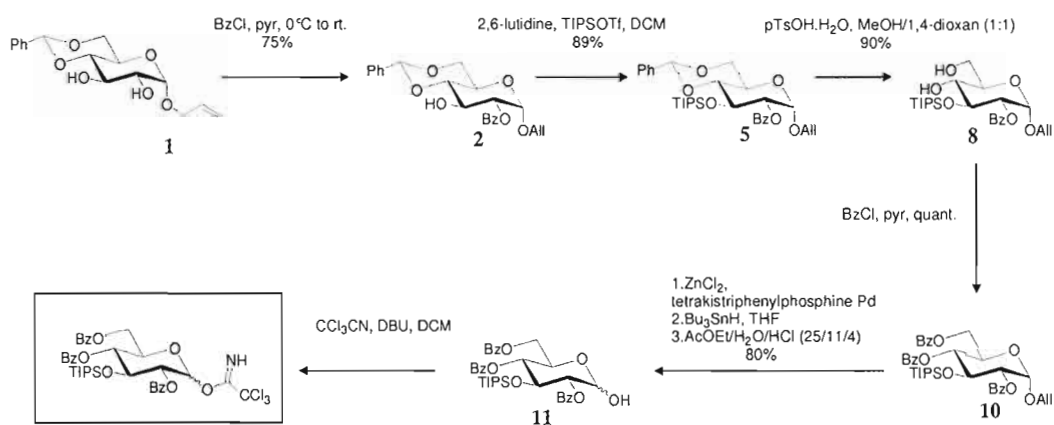


**Figure 16 : Evaluation des contraintes stratégiques liées à la synthèse du trisaccharide central du Cepacian**

<sup>68</sup> Cheng, H.; Cao, X.; Xian, M.; Fang, L.; Cai, T. B.; Ji, J. J.; Tunac, J. B.; Sun, D.; Wang, P. G. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 645-652



En effet, si l'on s'attarde sur la synthèse du tetrasaccharide  $\alpha$ -D-Manp-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-Glcp-(1 $\rightarrow$ 3)-[(2 $\rightarrow$ 1)- $\alpha$ -D-Galp]- $\alpha$ -D-GlcpA, certaines exigences propres à la chimie des carbohydrates, c'est-à-dire faisant intervenir les effets anchimériques et anomériques précédemment discutés, doivent être prises en considération. Tout d'abord, le glucoside terminal précurseur de l'acide glucuronique est l'accepteur en O-2 et O-3 respectivement pour une glycosylation d'anométrie  $\alpha$  avec un galactoside donneur et d'anométrie  $\beta$  avec un glucoside donneur. Dans le premier cas, ce type de lien impliquant la série gluco ne peut être dirigé par une participation anchimérique. Il est donc important d'utiliser un donneur réactif et protégé par des groupements de type « alkyle non participant ». En ceci, le groupement benzyle par son effet « armed » remplit ces conditions. Dans le second cas, l'anométrie  $\beta$  peut être aisément obtenu en protégeant le glucoside donneur par un groupement acyle. Cet aspect a déjà été exploité lors de la stratégie initiale. La différence dans le cas présent concerne la différenciation des protections des hydroxyles 2 et 3 du glucosyle donneur. En effet, la réalisation du tetrasaccharide (voire pentasaccharide) nécessite la déprotection sélective de l'alcool en position 3 du glucoside. Ce synthon est donc obtenu selon le schéma synthétique suivant (**Schéma 12**).



**Schéma 12 : Synthèse du glucoside donneur**

A partir du glucoside accepteur **1** obtenu dans la synthèse initiale, une protection de l'hydroxyle en position 3 par un groupement triisopropylsilyl est effectuée avec du

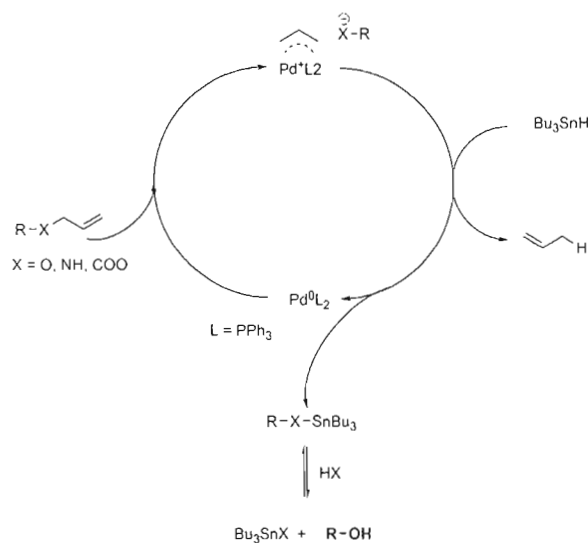
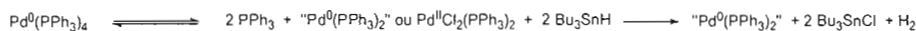
triisopropylsilyl trifluorométhanesulfonate (TIPSOTf) en présence de 2,6-lutidine comme base, avec un rendement de 89%. Ce dernier est stable en milieu basique et labile dans un milieu acide. De plus, sa déprotection se fera spécifiquement avec un réactif de type fluorure comme le TBAF, ce qui le rend compatible avec les conditions de synthèse ultérieures. Le benzylidène du composé *O*-silylé obtenu, est ensuite déprotégé de manière non régiosélective dans un mélange de MeOH/dioxane 1 : 1 (**Schéma 12**). Le catalyseur acide *p*-toluènesulfonique active l'oxygène 4 de l'acétal formé par le benzylidène, lequel est plus basique que le *O*-6<sup>69</sup> (l'ion oxonium en C-6 est plus stable qu'en C-4) et le retour du doublet de l'oxygène 6 conduit à la formation d'un acétal activé. Une première déprotection a lieu suivie d'une attaque du méthanol et/ou du dioxane présent comme solvant pour former un acétal caché<sup>70,71</sup>. Cet acétal caché est ré-activé par l'échange protonique et le retour du doublet de l'oxygène afin d'annuler la charge positive sur l'oxygène 4 du sucre et finalement l'attaque sur le carbonyle  $\delta^+$  activé par le solvant, dont la réactivité est augmentée par chauffage, conduit à la déprotection totale du benzylidène. Ce diol est ensuite benzoylé dans la condition standard. La déprotection de l'allyle en position anomérique est alors effectuée en utilisant la chimie du palladium pour donner l'hémiacétal avec 80% de rendement sur quatre réactions « *in situ* ». L'oxygène anomérique du composé a été activé en premier lieu par le chlorure de zinc et complexé par la suite avec du tétrakis  $[Pd^0(PPh_3)_4]$ . Le  $Pd^0$  est oxydé en  $Pd^{II}$  puis retrouve son état d'oxydation initial en présence de l'hydruure de tributylétain. Un autre complexe intermédiaire est alors formé entre l'oxygène anomérique et le tributylétain (voir le mécanisme sur le schéma 13). La dernière étape clé de cette réaction est le traitement : la déprotection se fait dans un milieu acide, donc la protonation de l'oxygène anomérique conduit à la formation de l'oxycarbénium et l'attaque de l'eau présente dans le milieu réactionnel déplace la réaction vers la formation de l'hémiacétal. Cette réaction est très propre et rapide, et ne nécessite en outre aucun traitement complémentaire.<sup>72,73,74</sup>

<sup>69</sup> Garegg, P. J.; Hultberg, H., *Carbohydr. Res.*, **1981**, 93, C10-C11.

<sup>70</sup> Lipták, A., *Tetrahedron Lett.*, **1976**, 17, 3551-3554.

<sup>71</sup> Lipták, A.; Fügedi, P.; Nánási, P., *Carbohydr. Res.*, **1976**, 51, C19-C21.

<sup>72</sup> Chandrasekhar, S.; Reddy, C. R. and Rao, R. J., *Tetrahedron*, **2001**, 57, 3435-3438.



**Schéma 13 : Mécanisme de déallylation par  $\text{Pd}^0(\text{PPh}_3)_4$**

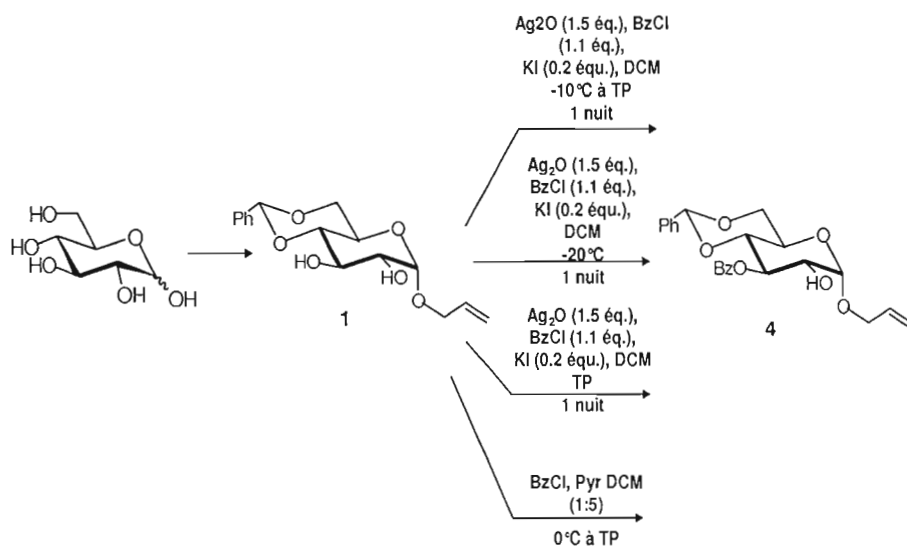
L'hémiacétal en présence de la base DBU dans le dichlorométhane réagit avec le trichloroacétonitrile pour former l' $\alpha$ -trichloroacétimide prêt à glycosyler avec l'hydroxyle *O*-3 du glucoside accepteur précurseur de l'acide glucuronique (**Schéma 12**).

En ce qui concerne ce dernier, comme la **Figure 16** le montre, il joue à la fois le rôle d'accepteur en positions *O*-2 et *O*-3. Les bons rendements de glycosylation sur l'alcool en *O*-3 pour former un laminaribioside selon la stratégie initiale *versus* la difficulté présumée de la formation du lien glycosidique  $\alpha$  en *O*-2 tendent à donner la priorité à la glycosylation du glucoside avec le galactoside pour éviter les problèmes d'encombrement stérique causé par la glycosylation d'un laminarioside avec le galactoside. Dans cette perspective, il est nécessaire d'obtenir, contrairement à la stratégie initiale, non pas un glucoside accepteur en position *O*-3 mais en position *O*-2. De plus, le groupement protecteur alors mis en place en position *O*-3 doit satisfaire à une déprotection sélective en présence des groupements benzyle portés par le

<sup>73</sup> Guibé, O. D. and Balavoine, G., *J. Org. Chem.*, **1987**, 52, 4984-4993.

<sup>74</sup> Garro-Helion, F.; Merzouk, A. and Guibé, F., *J. Org. Chem.*, **1987**, 58, 6109-6113.

galactoside. Il a donc été envisagé de protéger régiosélectivement cette position par un groupement acyle de type benzoyle.

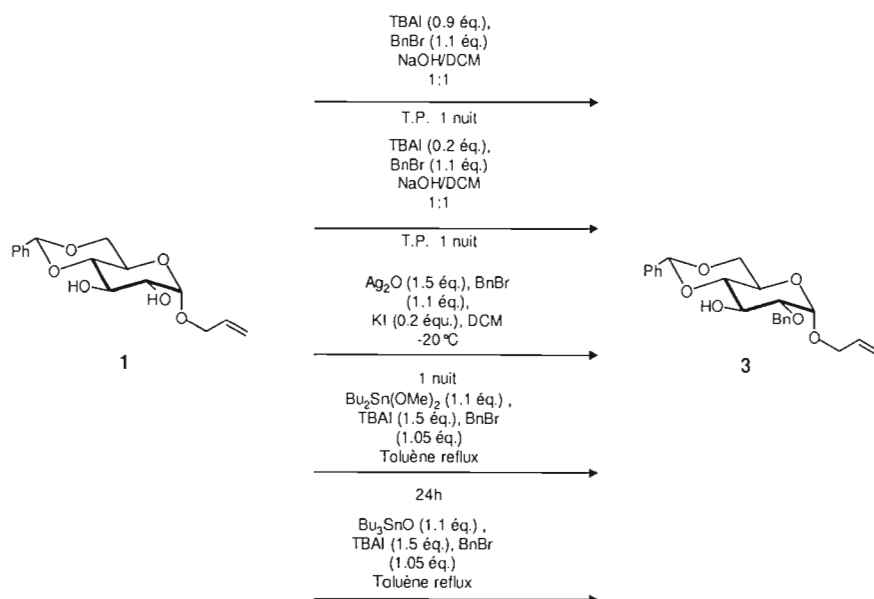


**Schéma 14 :** Essais de synthèse de l'accepteur glucosidique en O-2

Comme l'indique le **Schéma 14**, un certain nombre de conditions réactionnelles ont été testées sans apporter de résultats probants. En effet, une mauvaise régiosélectivité a été remarquée dans la totalité des essais effectués. Ces résultats en contradiction avec les publications fournissant les conditions réactionnelles utilisées, peuvent vraisemblablement s'expliquer par la présence du groupement allyle en position anomérique et plus particulièrement de l'anomérie  $\alpha$  contrairement aux molécules utilisées dans les publications faisant intervenir un groupement méthyle. Il est à noter que même dans les publications l'anomérie  $\alpha$  donnait des rendements médiocres comparativement à ceux obtenus avec l'anomère  $\beta$ . Effectivement, l'anomère  $\beta$  par l'antiperiplanarité des liaisons active la position O-3 comparativement à la position O-2.

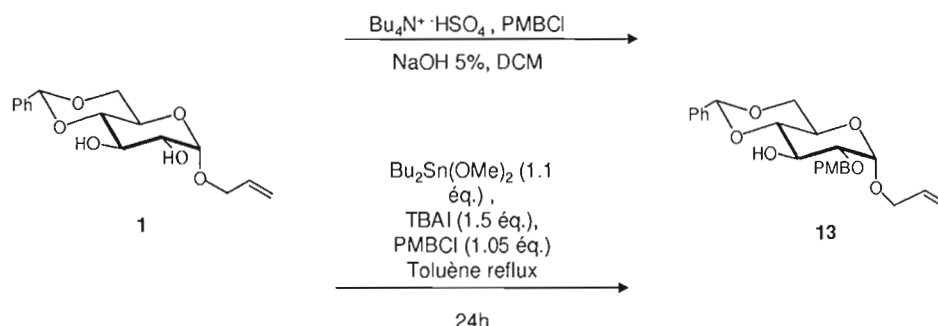
Suite à ces mauvais résultats avec une protection sélective de l'alcool en O-3, la stratégie s'est réorientée vers une protection sélective de l'hydroxyle en O-2. Cette fois cependant, il est nécessaire de protéger non pas par un acyle mais par un alkyle de type benzyle ou *p*-methoxybenzyle. En effet, la déprotection d'un acyle en présence des benzoates

du glucoside donneur ne serait pas réalisable de façon sélective. (Schémas 15 et 16). L'utilisation de la chimie de l'étain pour protéger sélectivement cette position par un acyle ayant été efficace, une méthode similaire a donc été utilisée dans le cas présent. Cependant, une régiosélectivité insuffisante a conduit dans le meilleur des essais à un mélange de produits, voire à la formation rapide de produit dibenzylé. Ces résultats sont sans doute explicables par la réactivité plus faible des éthers vis-à-vis des esters, ce que semblent corroborer les essais où seules des traces de produits ont pu être observées. Le manque de sélectivité obtenue par la catalyse par transfert de phase en présence de soude peut être également dû à une défaillance de l'agitation du milieu réactionnel. En effet, ce paramètre expérimental est la clé de la réussite d'une telle réaction. Il est toutefois intéressant de noter l'importance du nombre d'équivalent de TBAI. En effet, ce dernier nécessite une quantité quasi stœchiométrique pour permettre l'obtention d'une certaine sélectivité. En quantité catalytique, ce rôle n'est pas joué et le produit dibenzylé est exclusivement obtenu en plus de la récupération de matériel de départ.<sup>75</sup>



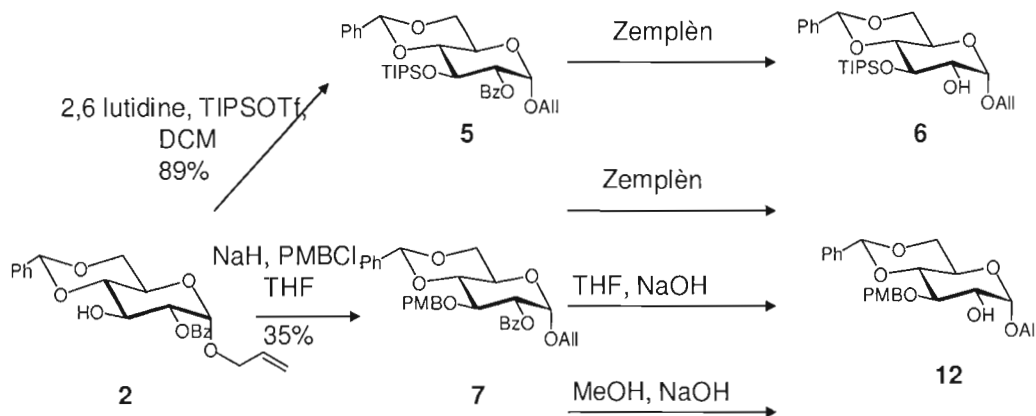
**Schéma 15** : Essais de synthèse de l'accepteur 2-O-benzyl-glucosidique en O-3

<sup>75</sup> Garegg, P.J., Iversen T., Oscarson S., Carb. Res. 1976, 50, 12-14



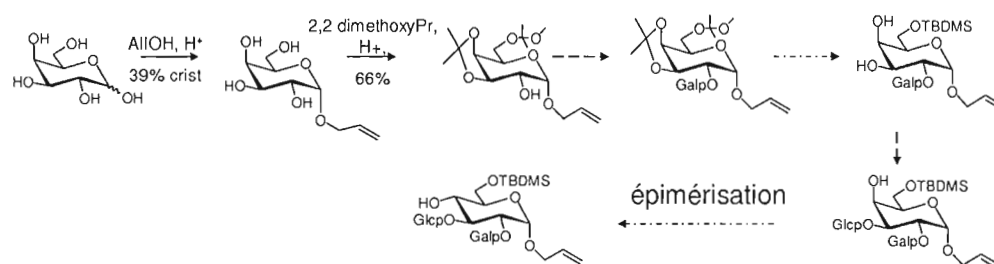
**Schéma 16 :** Essais de synthèse de l'accepteur 2-O-pMB-glucosidique en O-3

La protection régiosélective de l'une ou l'autre position du glucoside accepteur étant peu concluante, une étape supplémentaire a été dès lors envisagée. Exploitant le résultat d'une protection de la position *O*-2 par un benzoate, il a été tenté de protéger dans une seconde étape l'hydroxyle restant en *O*-3 par un TIPS (ce qui permet de poursuivre la méthode du synthon commun aux deux glucosides) ou par un *p*-methoxybenzyle en présence de conditions basiques *via* l'utilisation de NaH et de chlorure de *p*-methoxybenzyle. Cette basicité a conduit à une migration du benzoate vers la position 3, ce qui a baissé le rendement de la réaction à 35%.



**Schéma 17 :** Synthèse d'accepteurs glucosidiques en O-2

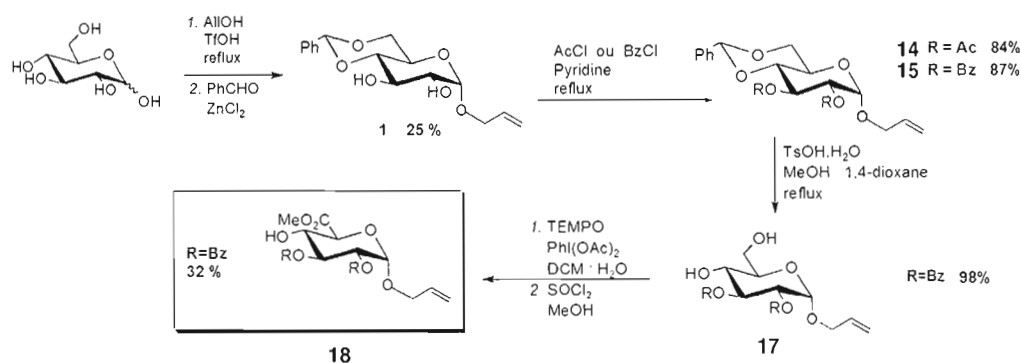
A la suite de l'introduction d'un groupement protecteur en position *O*-3, une réaction de débenzoylation de type Zemplén est effectuée. Lors des conditions usuelles (MeONa dans méthanol, pH 10), une migration du groupement silylé a été observée conduisant à un mélange de régioisomères insolubles et ce, quelque soit le solvant et par conséquent difficilement traitable et purifiable. Les mêmes conditions de Zemplén utilisées en présence du *p*-méthoxybenzyle se sont révélées inefficaces à déprotéger le benzoate. Il en a été de même avec des conditions plus fortes, faisant intervenir la soude dans du THF. Seules la soude dans le méthanol a permis de déprotéger 42% du produit de départ. L'encombrement des groupements *p*-méthoxybenzyle et benzoate doivent être la cause majeure de la déprotection difficile. D'autres méthodes telles que l'emploi du KCN peuvent être retenues à l'avenir comme alternative. Des solutions aux problèmes de migration sont également envisagées comme l'installation du *p*-méthoxybenzyle en conditions acide *via* la conversion de l'alcool de *p*-méthoxybenzyle en imidate puis à sa glycosidation en présence de promoteur TMSOTf. Un milieu tamponné par de l'acide acétique peut permettre d'éviter la migration du TIPS. Enfin, une solution plus radicale serait de changer de synthon de départ et de travailler directement avec l'acide glucuronique ou un galactoside soumis ultérieurement à une épimérisation comme le suggère le **Schéma 18**.



**Schéma 18** : Stratégie de synthèse alternative du trisaccharide central du Cepacian

### 3.5 CONVERSION DE D-GLUCOPYRANOSIDES EN ACIDE D-GLUCURONIQUE

La voie de synthèse pour l'obtention de l'acide  $\alpha$ -D-glucuronique est représentée sur le **Schéma 19**.



**Schéma 19 : Synthèse du dérivé de l'acide D-glucuronique 18**

La protection sélective de la position anomère du D-glucose par un groupement allyle s'effectue lors d'une réaction de Fischer. Cette réaction est réalisée en utilisant l'alcool allylique comme solvant et de l'acide trifluorométhanesulfonique en tant que catalyseur acide.<sup>76</sup> La réaction procède alors par protonation :

- soit de l'oxygène du groupement hydroxyle en position anomère qui conduit par déshydratation à un intermédiaire de type oxycarbénium. L'alcool allylique réagit alors sur le centre anomère pour former le D-glucoside souhaité principalement d'anomérie  $\alpha$ , car étant stabilisé par effet anomère.
- soit de l'oxygène endocyclique qui conduit à l'ouverture du cycle. En milieu acide alcoolique, cette réaction permet l'obtention de quatre composés : les anomères  $\alpha$  et  $\beta$

<sup>76</sup> Wessel, H. P. *J. Carbohydr. Chem.* **1988**, 7, 263-269



dans les conformations pyranose et furanose. Comme précédemment, l' $\alpha$ -D-glucosyle d'allyle est le produit majoritaire de la réaction pour des raisons thermodynamiques.

Les hydroxyles en *O*-4 et *O*-6 sont ensuite protégés par un groupement *O*-benzylidène. L'acétalation est effectuée dans le benzaldéhyde en présence de chlorure de zinc. La préparation de ce glucoside est réalisée à grande échelle (sur plusieurs grammes) et le composé **1** est obtenu anomériquement pur par cristallisation avec un rendement global de 25%. La pré-purification préalable est réalisée par précipitation dans un mélange eau glacée/hexane, l'excès de chlorure de zinc et de benzaldéhyde étant soluble respectivement dans l'eau et dans l'hexane.

Une autre alternative pour la protection des hydroxyles en *O*-4 et *O*-6 par un benzylidène consiste en une réaction de transacétalation en utilisant l' $\alpha,\alpha$ -diméthoxytoluène en présence d'une catalyse acide dans le DMF. Une purification par chromatographie sur gel de silice aurait été nécessaire, ce qui est moins avantageux lors d'une synthèse à grande échelle.

La caractérisation par RMN  $^1\text{H}$  de la structure de ce composé, à l'aide d'une expérience bidimensionnelle homonucléaire de type COSY, a permis de mettre en évidence et d'assigner deux systèmes de spin indépendants :

- le système allylique où, en raison des couplages mutuels de tous les protons du système, chaque signal est un multiplet.
- le système du sucre.

On retrouve également les signaux caractéristiques du benzylidène : les protons aromatiques du phényle du benzylidène se situent entre 7 et 8 ppm et le singulet caractéristique du proton du carbone tertiaire a un déplacement chimique de 5.55 ppm.

En fonction de la configuration, axiale ou équatoriale, des protons du système glyconique, on distingue théoriquement des constantes de couplage :

- comprises entre 7-14 Hz pour un couplage axial/axial.
- comprises entre 1-6 Hz pour des couplages axial/équatorial ou équatorial/équatorial.

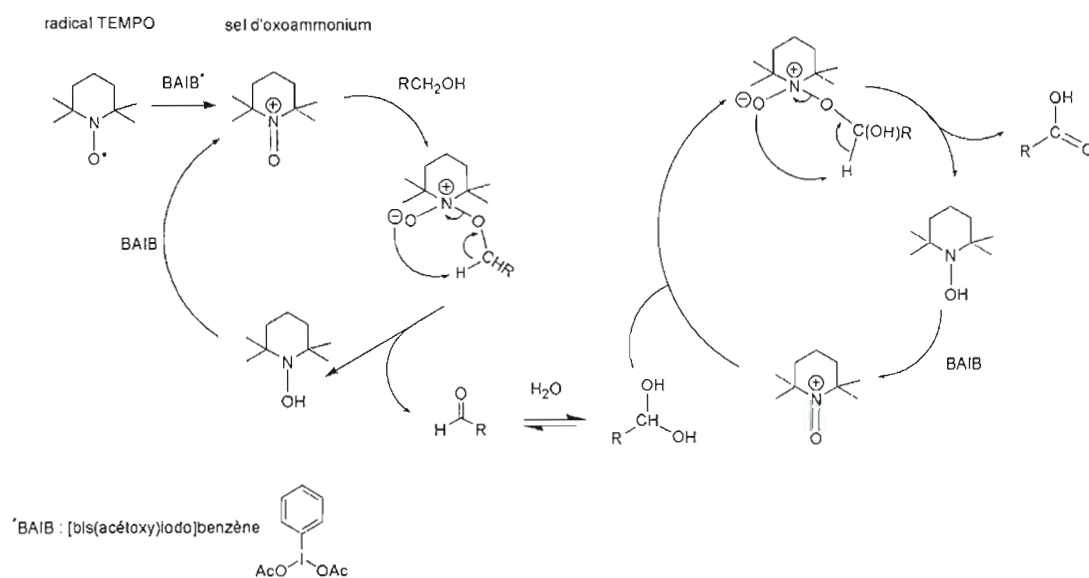
Il est également important de souligner une superposition des signaux dans le cas d'une égalité de constante de couplage, donc, un doublet dédoublé apparaît sous la forme d'un triplet apparent. Ainsi, le doublet *H*-1 ( $\delta = 4.97$  ppm,  $J_{1,2} = 3.9$  Hz) est représentatif de la position anomère glycosylée de configuration  $\alpha$ -D et permet d'attribuer l'ensemble des signaux de cette unité. De plus, la multiplicité associée au proton *H*-2 ( $\delta = 3.64$  ppm) est un doublet de doublet dédoublé (ddd) qui résulte du couplage faible avec le proton anomère équatorial ( $J_{1,2} = 3.2$  Hz) et des couplages forts avec le proton *H*-3 axial ( $J_{2,3} = 9.3$  Hz) et l'hydroxyle *OH*-3 ( $J_{2,OH} = 10.2$  Hz). Pour les signaux des protons *H*-3 ( $\delta = 3.96$  ppm) et *H*-4 ( $\delta = 3.52$  ppm) qui présentent chacun deux constantes de couplage fortes (axial/axial) et sensiblement égales, apparaissent sous la forme d'un triplet, redédoublé pour *H*-3 par couplage avec le proton du groupement hydroxyle *OH*-3 ( $J_{3,OH} = 1.0$  Hz), avec des constantes :  $J_{2,3} \approx J_{3,4} \approx J_{4,5} \approx 9.5$  Hz. De part ses couplages avec les protons *H*-4, *H*-6a et *H*-6b, le proton *H*-5 possède un signal multiplet. Les protons *H*-6a et *H*-6b présentent tous deux une multiplicité sous la forme d'un triplet. Les signaux des protons des hydroxyles se situent entre 2 et 4 ppm mais leurs déplacements chimiques sont variables à l'intérieur de cette zone.

Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  est en accord avec la structure proposée et le signal C-1 ( $\delta = 97.8$  ppm) est caractéristique d'une position anomère glycosylée de configuration  $\alpha$ -D.

La protection des positions *O*-2 et *O*-3 par les groupements acétyle ou benzoyle<sup>12</sup> fait intervenir une catalyse nucléophile *via* la pyridine. L'attaque du chlorure d'acétyle conduit à la formation d'un intermédiaire très réactif acyle pyridinium qui réagit avec les fonctions hydroxyles des positions *O*-2 et *O*-3 pour donner respectivement les composés **14** et **15** avec des rendements de 87 et 84%, respectivement. L'analyse RMN fait apparaître la protection des positions *O*-2 et *O*-3 par un changement de la multiplicité de signaux et une augmentation du déplacement chimique à champ faible dus à l'influence des groupes protecteurs esters :  $\Delta\delta_{\text{acétylé/libre}} \approx +1.4$  ppm et  $\Delta\delta_{\text{benzoylé/libre}} \approx +1.9$  ppm.

La déprotection du benzyldène du composé **15**, réalisée en présence d'acide *p*-toluènesulfonique monohydraté dans le méthanol conduit au diol **17**. Cette déprotection se caractérise en RMN  $^1\text{H}$  par le déplacement des signaux des protons *H*-4, *H*-6a et *H*-6b à champ fort (4.05-3.92 ppm), initialement présents à 4.38, 3.93 et 3.91 ppm.

L'oxydation sélective de l'alcool primaire en position 6 en aldéhyde puis en acide carboxylique s'effectue selon un mécanisme ionique mettant en jeu un oxydant en quantité catalytique, le radical TEMPO, et un co-oxydant, le bisacétoxyiodobenzène (BAIB), qui permet dans un premier temps d'activer le TEMPO en sel d'oxoammonium, puis de le régénérer.<sup>77</sup> Le BAIB semble également jouer un rôle dans l'échange de protons durant la phase d'attaque de l'alcool sur le sel d'oxoammonium (**Schéma 20**).<sup>78,79,80</sup>



**Schéma 20** : Mécanisme d'oxydation proposé de l'alcool primaire en position 6 par le radical TEMPO

<sup>77</sup> Codee, J. D. C.; Stubba, B.; Schiattarella, M.; Overkleeft, H. S.; Van Boeckel, C. A. A.; Van Boom, J. H.; Van der Marel, G. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 3767-3773

<sup>78</sup> De Luca, L.; Giacomelli, G.; Masala, S.; Porcheddu, A. *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 4999-5001

<sup>79</sup> De Mico, A.; Margarita, R.; Parlanti, L.; Vescovi, A.; Piancatelli, G. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 6974-6977

<sup>80</sup> Zhao, M.; Li, J.; Mano, E.; Song, Z.; Tschaen, D. M.; Grabowski, E. J. J.; Reider, P. J. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 2564-2566

Lors du traitement de la réaction, le composé est extrait avec le DCM après l'acidification de la phase aqueuse jusqu'à pH = 1. L'estérification est effectuée dans le méthanol en présence de chlorure de thionyle, qui permet l'activation de l'acide carboxylique conduisant à la formation d'un anhydride mixte d'acide carboxylique/acide chlorosulfinique, libérant conjointement un équivalent d'acide chlorhydrique. Le chlorure attaque alors sur le carbone carboxylique et le chlorure d'acide se forme *via* un intermédiaire tétraédrique (addition/élimination), libérant un équivalent de SO<sub>2</sub> et va permettre la formation de l'ester de méthyle **18** par l'attaque du méthanol sur le carboxyle du chlorure d'acide.

L'analyse RMN du proton permet d'observer le singulet caractéristique du groupement méthyle ( $\delta$  = 3.88 ppm). Le proton *H*-4 ( $\delta$  = 4.20 ppm) couple avec le proton de l'hydroxyle *OH*-4. De plus, la disparition des protons *H*-6a/b s'observe *via* le doublet caractéristique du proton *H*-5 ( $\delta$  = 4.44 ppm), résultant d'un couplage avec *H*-4 seulement, ce qui indique que l'oxydation est sélective de l'alcool primaire en position 6.

Le composé ainsi synthétisé est prêt pour une glycosylation en position 4 avec l'unité rhamnoside. Cependant, dans le cas des fragments cibles de ce projet, il est nécessaire de redéfinir un nouveau synthon glucuronique permettant la glycosylation sur les positions *O*-2 et *O*-3.

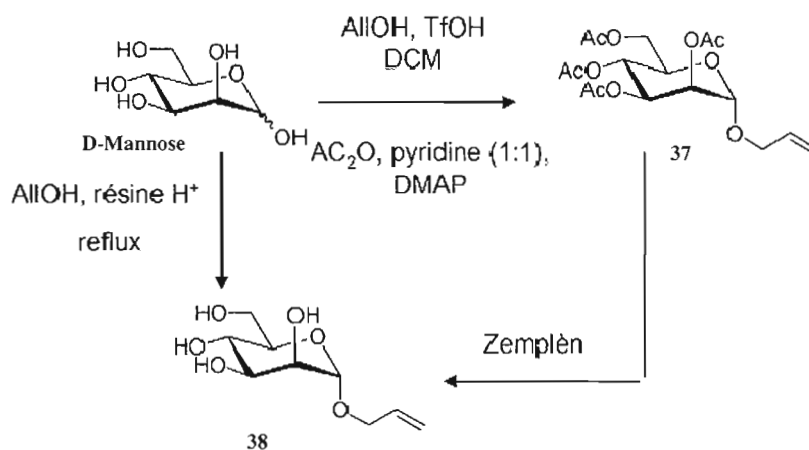
Tout d'abord une glycosidation de Fischer en catalyse acide en présence de résine Amberlite et d'alcool allylique permet de protéger la position anomérique par un allyle. Bien que la chromatographie sur couche mince indique l'obtention majoritaire de l'anomère thermodynamique  $\alpha$  souhaité, le produit n'a pu être recristallisé et plusieurs difficultés ont été rencontrées lors des chromatographies sur gel de silice en raison de son extrême polarité. Afin de limiter l'impact de ce problème, une acétylation directe intermédiaire a été effectuée. La séparation des produits est cependant fastidieuse par ce biais et même si les résultats de l'acétylation et désacétylation sont quasi quantitatifs, l'utilisation du sucre libre est délicate si bien que l'étape d'oxydation en présence de TEMPO produit des résultats difficilement vérifiables par RMN et le suivi réactionnel étape après étape manque de contrôle. De ce fait, suite à la lactonisation en présence d'anhydride benzoïque, l'obtention d'une masse inexacte à deux unités près, ne permet pas de conclure sur l'étape de synthèse qui a fait défaut, ni sur

le mécanisme, ni sur la structure finalement obtenue. Par souci de clarté, le processus de synthèse de l'acide glucuronique n'est finalement pas obtenu à partir de l' $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle mais du 4,6-benzylidène  $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle dont la pureté cristalline en fait un meilleur candidat de départ.

Le nombre important d'étapes intermédiaires à l'obtention de l'acide  $\alpha$ -D-glucuronique d'allyle était jugé nécessaire du fait de la sensibilité de la fonction acide carboxylique aux conditions de la glycosidation de Fischer (reflux, temps de réaction long, acidité). L'utilisation des micro-ondes ayant été réalisée avec succès pour cette même réaction sur le glucose avec un temps de réaction de dix minutes contre plusieurs heures, il a été envisagé de tester ces conditions réactionnelles plus douces sur l'acide glucuronique libre commercialement disponible et réduire ainsi le nombre d'étapes préliminaires à la lactonisation. La glycosidation de l'alcool allylique sur l'acide glucuronique a permis de donner l'anomère  $\alpha$  cristallin avec un rendement de 30%, à optimiser. L'utilisation des micro-ondes a donc permis de réaliser une réaction de Fischer sur l'acide glucuronique jusqu'alors irréalisable dans les conditions de reflux usuelles et constitue un précédent dans la chimie des sucres.

### 3.6 SYNTHÈSE DE RESIDUS D-MANNOPYRANOSIDES

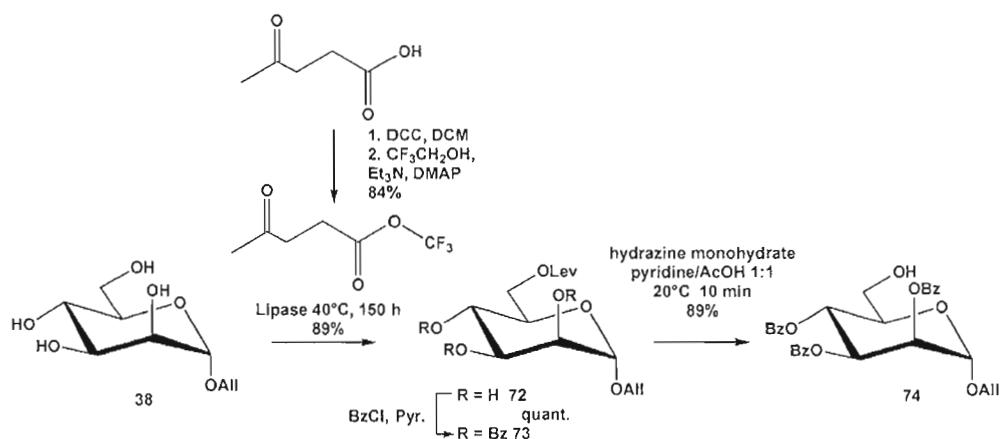
Le D-mannose est impliqué en tant que tel dans la synthèse de fragments cibles du Cepacian et en tant que précurseur du D-rhamnose.



**Schéma 21 :** Alkylation du mannopyranose par la glycosidation de Fischer

A partir du D-mannose, une glycosidation de Fischer est effectuée. Une première méthode consiste à employer comme catalyseur acide l'acide triflique. Le mélange réactionnel en résultant s'est avéré être composé d'un grand nombre de sous-produits, d'après l'observation sur chromatographie couche mince. Cette « soupe réactionnelle » a par conséquent été un obstacle à une recristallisation du produit majoritaire. Il a été nécessaire de passer par une étape transitoire d'acétylation pour effectuer une purification sur gel de silice. Une seconde méthode employant cette fois-ci la résine Amberlite échangeuse d'ions comme source de protons, a conduit à un mélange réactionnel beaucoup plus propre et de traitement rapide (filtration sur coton), ce qui a permis une recristallisation du produit. La supériorité de la résine face aux acides usuels pour la glycosidation de Fischer conduit donc à sa recommandation pour toute réaction ultérieure de ce type. Le mannoside **38** ainsi obtenu est engagé dans des étapes de protections pour générer un accepteur (**Schéma 22**).<sup>81</sup>

<sup>81</sup> Composé synthétisé dans le laboratoire par l'étudiant en maîtrise Tsé Chi Shiao



**Schéma 22** : Synthèse du mannoside accepteur

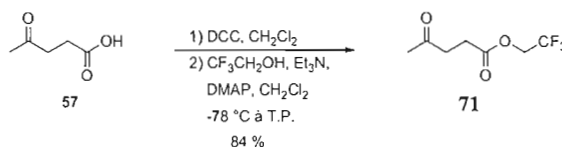
D'après l'analyse structurale du CBC héptasaccharidique, l'hydroxyle en position 6 du D-mannoside est la position non réductrice liée au D-galactosyle. D'après la planification des synthèses, la glycosylation avec le donneur D-galactosyle est l'étape finale pour l'hexasaccharide. Alors, une protection incompatible avec les autres groupements installés et sélective à la position O-6 a été choisie selon un mode enzymatique.<sup>82</sup>

Généralement, l'introduction d'un groupement lévulinyle peut se faire avec l'anhydride lévulinique dans la pyridine<sup>83</sup>, mais la stratégie présente a été choisie par la régiosélectivité de la lipase en position O-6. Pour ce faire, le réactif est préparé à partir de l'acide lévulinique dans les conditions de couplage type peptidique en utilisant le DCC comme l'agent activant dans un premier temps, suivi de l'ajout du nucléophile trifluoroéthanol en présence de catalyseur DMAP et d'une base triéthylamine pour former le trifluoroéthyle lévulinate **71** (Schéma 22).<sup>84</sup> Ce précurseur **71** a été isolé par distillation à 100 °C avec un rendement de 84%. Le sous-produit DCU ne distille qu'à 110 °C, donc la contamination a été évitée.

<sup>82</sup> Rencurosi, A.; Poltti, L.; Russo, G. and Lay, L., *Eur. J. Org. Chem.*, **2003**, 1672-1680.

<sup>83</sup> Hassner, A.; Strand, G.; Rubinstein, M. and Patchornik, A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**, 97, 1614.

<sup>84</sup> Lay, L.; Panza, L.; Riva, S.; Hkitri, M.; Tirendi, S., *Carbohydr. Res.*, **1996**, 291, 197-204.



**Schéma 23** : Préparation du groupement protecteur levulinate.<sup>85</sup>

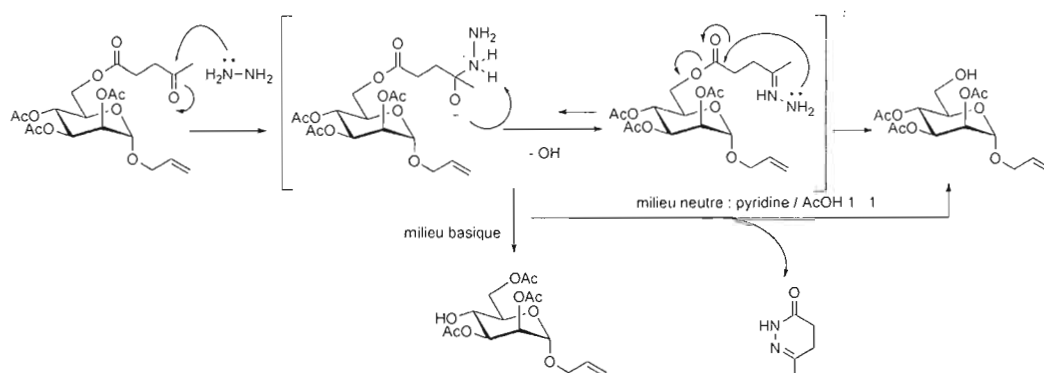
L'acylation régiosélective *via* une transestérification enzymatique est alors effectuée à partir du composé **38** avec le réactif lévulinyle **71** (**Schéma 22**) en utilisant de la lipase immobilisée de type *Candida Antarctica* dans du THF sous l'incubation agitée à 40 °C. Après 3 jours de travail, l'enzyme déplace le lévulinyle à sa place correspondante dont la position 6. Le 6-*O*-lévulinate **72** a été isolé après la filtration et purification par chromatographie avec un rendement de 89%.

Le composé **72** a été ensuite benzoylé pour conduire au composé **73** avec un rendement de 74% en vu d'avoir des groupements de type acyle tels que les acétates, mais plus encombrés et un peu plus stables en milieu basique.

L'optimisation de la déprotection sélective de **73** a été étudiée dans le cadre de ce travail avant la continuation des synthèses jusqu'à la glycosylation. Tout d'abord, le 6-*O*-lévulinate-mannopyranoside a été déprotégé par l'acétate d'hydrazine, réactif sélectif au lévulinate dans un mélange de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 4 : 1. En effet, la sélectivité provient de la nature même du groupement lévulinyle, telle qu'illustrée au **Schéma 24**. L'attaque nucléophile de l'hydrazine sur la cétone du lévulinate est suivie d'un réarrangement intramoléculaire, force motrice de la déprotection, et la formation d'un hexacycle conduit au départ du groupement protecteur et l'hydroxyle *O*-6 se retrouve libre. Expérimentalement, une migration d'acétate a été observée après l'isolation du composé **63**, ce qui est confirmé par l'analyse de la RMN de type COSY et comparé avec le spectre du proton du composé **74**, synthétisé par la suite après l'optimisation de la procédure.

<sup>85</sup> Composé synthétisé au laboratoire par mon collègue Tsé Chieh Shiao



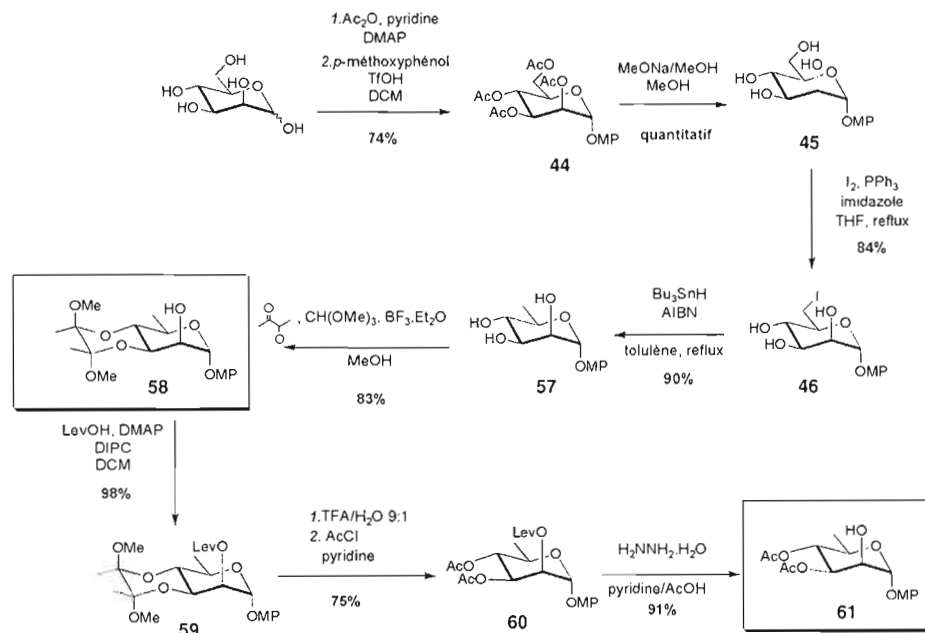


**Schéma 24** : Mécanisme de la déprotection du lévulinate.

### 3.7 SYNTHÈSE DE RESIDUS D-RHAMNOPYRANOSIDES

#### 3.7.1 Synthèse de rhamnosides accepteurs

La per-*O*-acétylation du D-mannose est effectuée dans un mélange anhydride acétique/pyridine en présence d'une quantité catalytique de 4-diméthylaminopyridine (DMAP), qui joue le rôle de catalyseur nucléophile, comme expliqué précédemment lors de la synthèse du D-glucose per-*O*-acétylé. L'analyse RMN du proton permet d'évaluer l'abondance relative de l'anomère  $\alpha$  ( $\delta = 6.09$  ppm) par rapport à l'anomère  $\beta$  ( $\delta = 5.98$  ppm) dans un ratio 40/1.



**Schéma 25** : Synthèse d'accepteurs rhamnosides en O-2

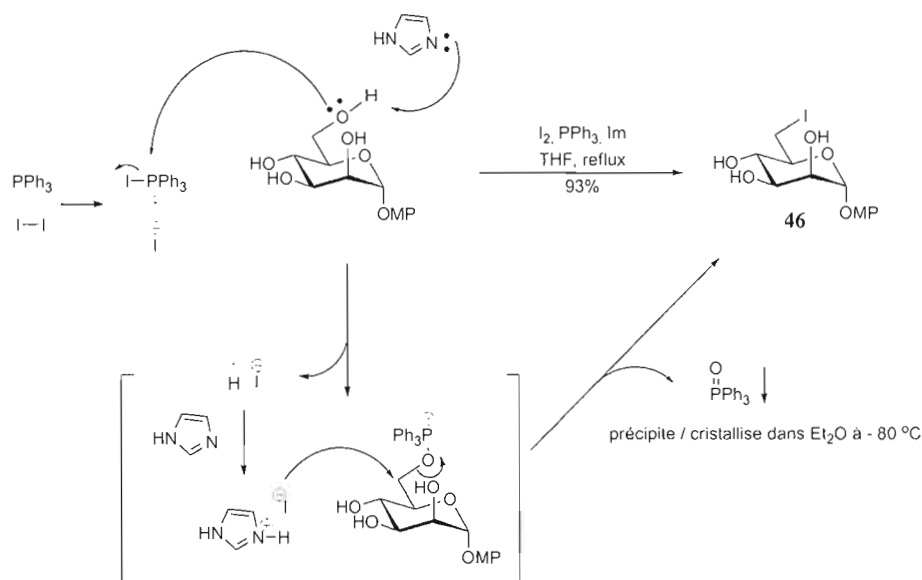
La protection de la position anomère du D-mannose par un groupement méthoxyphényle s'effectue lors d'une réaction de glycosidation. La catalyse par l'acide trifluorométhanesulfonique permet la protonation de l'oxygène du groupement acétate en position anomérique. La réaction procède *via* la formation d'un intermédiaire oxycarbénium puis acétoxy carbénium, de part l'assistance anchimérique du groupement protecteur de type ester en position 2, ce qui permet uniquement l'attaque du méthoxyphénol sur le carbone anomère au niveau de la face  $\alpha$  pour obtenir le composé **44** (d'anométrie  $\alpha$ ) car étant également stabilisé par effet anomère. L'analyse RMN <sup>1</sup>H permet d'observer la protection sélective de la position anomérique par le *p*-méthoxyphényle grâce aux massifs situés dans la zone des aromatiques ( $\delta = 7.04\text{--}7.00$  et  $6.86\text{--}6.82$  ppm) et au signal singulet du groupement méthoxy ( $\delta = 3.75$  ppm).

La désacétylation du mannoside est réalisée dans les conditions de Zemplén (méthanolate de sodium en solution dans le méthanol). Le traitement de la réaction consiste à neutraliser le pH basique du milieu par un échange des ions sodium présents avec les protons d'une résine de type Amberlite IR-120, échangeuse d'ions  $H^+$ . L'analyse RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  caractérise cette déprotection par la disparition de tous les signaux liés aux groupements acétyles, les autres signaux étant déplacés à champ fort par rapport à ceux du composé **44**.

Lors de l'iodation sélective<sup>86</sup> de la position 6 (**Schéma 26**), l'imidazole accélère la réaction en étant utilisé comme base pour capter le proton de l'hydroxyle en position 6 après la formation d'un intermédiaire de type phosphinium. L'addition d'iode en présence de triphénylphosphine entraîne la formation d'un ion iodure, lequel attaque le carbone en position 6. L'oxyde de triphénylphosphine alors produit, est filtré sur un mélange de silice/célite. En analyse RMN  $^{13}C$ , cette iodation s'observe *via* un déplacement du signal du carbone C-6 à champ fort ( $\delta = 6.2$  ppm).

---

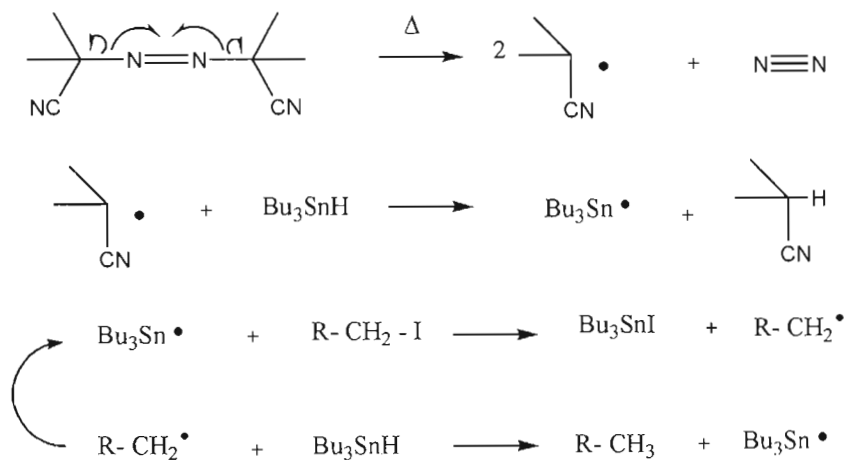
<sup>86</sup> Skaanderup, P. R.; Poulsen, C. S.; Hyldtoft, L.; Jorgensen, M. R.; Madsen, R. *Synthesis* **2002**, 1721-1727



**Schéma 26 : Mécanisme d'iodation de la position 6**

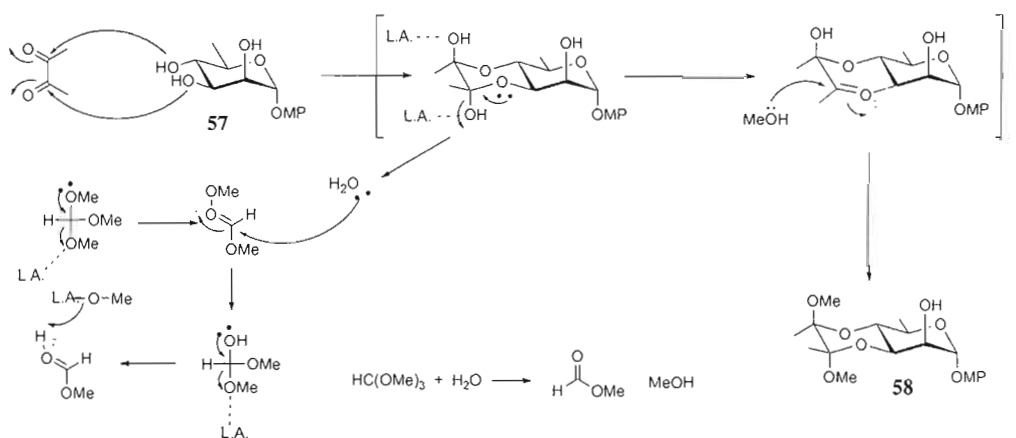
La formation du D-rhamnosyle **57** s'appuie sur un mécanisme radicalaire où le 2,2'-azo-bis-butyronitrile (AIBN) joue le rôle d'initiateur (**Schéma 27**) agissant sur l'hydruure de tributylétain pour créer un radical tributylétain.<sup>87</sup> Ce dernier intervient durant la propagation formant le radical RCH<sub>2</sub>• en position 6 lequel réagit avec l'hydruure de tributylétain pour former le rhamnoside **57**. Le radical Bu<sub>3</sub>Sn• est également régénéré lors de la troisième phase de propagation ce qui permet à la réaction de s'autoentretenir. La réduction de la position 6 s'observe en analyse RMN <sup>1</sup>H grâce à la modification des signaux des protons *H*-6a et *H*-6b et du C-6, c'est-à-dire par l'apparition d'un signal doublet intégrant pour les trois protons du groupement méthyle ( $\delta = 1.23$  ppm,  $J_{5,6} = 6.3$  Hz) et en analyse RMN <sup>13</sup>C par l'apparition du signal du méthyle ( $\delta = 17.2$  ppm).

<sup>87</sup> Kwon, Y. T.; Lee, Y. J.; Lee, K.; Kim, K. S. *Org. Letters* **2004**, 6, 3901-3904



**Schéma 27** : Mécanisme radicalaire de réduction de la position 6

La protection des positions 3 et 4 du D-rhamnosyle par un bisacétal met en jeu la 2,3-butanedione, le triméthylorthoformiate, ainsi qu'un acide de Lewis, l'étherate de trifluorure de bore. Dans un premier temps, le triméthylorthoformiate favorise en milieu acide le déplacement de l'équilibre de la 2,3-butanedione vers le 2,2,3,3-tetraméthoxybutane (**Schéma 28**).<sup>88</sup>



**Schéma 28** : Mécanisme de la protection des positions 3 et 4 sous forme de bis-acétal.

<sup>88</sup> Hense, A.; Ley, S. V.; Osborn, H. M. I.; Owen, D. R.; Poisson, J.-F.; Warriner, S. L.; Wesson, K. E. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1997**, 2023-2031

La forme acétalique de la butanedione, plus réactive, peut ensuite réagir avec les fonctions hydroxyles des positions 3 et 4 du D-rhamnoside pour former un bisacétal. Quatre diastéréoisomères du premier D-rhamnosyle accepteur **58** sont finalement obtenus avec 83 % de rendement. La forme majoritaire (**Schéma 28**) est stabilisée par effet anomère *via* un recouvrement favorable entre une orbitale n non liante des oxygènes endocycliques du bisacétal et l'orbitale  $\sigma^*$  des liaisons aglyconiques (carbone-méthoxy).<sup>89,90,91</sup> L'analyse RMN  $^1\text{H}$  permet l'observation de la présence du bisacétal protecteur grâce aux singulets caractéristiques des substituants méthoxy et méthyle en position 2' et 3' ( $\delta = 3.34$  et  $3.26$  ppm et  $\delta = 1.34$  et  $1.33$  ppm) et de vérifier la protection des positions 3 et 4 grâce au couplage, observé lors de l'expérience homonucléaire bidimensionnelle de type COSY, du proton *H*-2 ( $\delta = 4.12$  ppm,  $J_{\text{OH},2} = 2.2$  Hz) avec le proton de l'hydroxyle *OH*-2 ( $\delta = 2.61$  ppm).

En dépit des 4 diastéréoisomères, les bisacétals ont été déprotégés et reprotégés sous la forme d'acétates **61** afin de conserver une conformation unique après la déprotection du lévulinate pour faciliter la glycosylation par la suite. Alors, la déprotection très rapide du bisacétal a été accomplie par une solution d'acide trifluoroacétique/eau 9 : 1. Étant donné que la liaison *O*-anomérique est très fragile, tous les liens *O*-glycosidiques se brisent dans un milieu acide à pH 1-2 (estomac). Avant d'endommager ce lien, une déprotection concomitante est réalisée lors l'évaporation du milieu réactionnel.

---

<sup>89</sup> Montchamp, J.-L.; Tian, F.; Hart, M. E.; Frost, J. W. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3897-3899

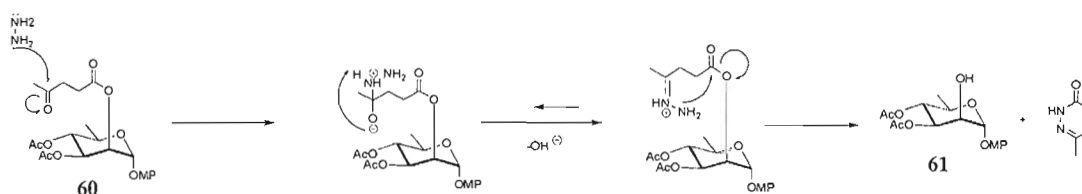
<sup>90</sup> Ley, S. V.; Baeschlin, D. K.; Dixon, D. J.; Foster, A. C.; Ince, S. J.; Priepke, H. W. M.; Reynolds, D. *J. Chem. Rev.* **2001**, *101*, 53-80

<sup>91</sup> Douglas, N. L.; Ley, S. V.; Osborn, H. M. I.; Owen, D. R.; Priepke, H. W. M.; Warriner, S. L. *Synlett* **1996**, 793-794



leur présence sur les positions 3 et 4 étant étayée par leur déplacement à champ faible respectivement  $\delta = 5.50$  et  $5.12$  ppm et par la disparition des signaux caractéristiques du bisacétal.

La synthèse du deuxième rhamnosyle accepteur **61** nécessite la déprotection sélective de la position 2 du composé **60**.<sup>93</sup> L'hydrate d'hydrazine agit comme nucléophile sur le carbone cétonique du lévulinate et un mécanisme de réarrangement intramoléculaire (**Schéma 30**) conduit à la formation du composé **61** et d'une molécule de 6-méthyl-4,5-dihydropyridazin-3,(2H)-one. Le mélange pyridine/acide acétique utilisé comme solvant permet de travailler en milieu tamponné, soit dans des conditions plus douces que celles utilisant habituellement l'anhydride acétique dans le DMF permettant d'obtenir le rhamnosyle accepteur **61** pur avec un rendement de 91%. En analyse RMN  $^1\text{H}$ , la déprotection de la position 2 s'observe par la disparition de tous les signaux représentatifs du lévulinate et par le couplage observé lors d'une expérience de type COSY entre le proton  $H-2$  (sl,  $\delta = 4.24$  ppm), déplacé à champ fort, avec le proton de la fonction hydroxyle  $\text{OH}-2$  ( $\delta = 2.67$  ppm et  $J_{\text{OH},2} = 4.4$  Hz).



**Schéma 30** : Mécanisme de déprotection du lévulinate

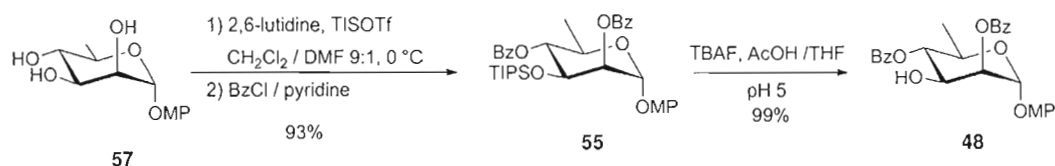
Une autre méthode efficace permettant de déprotéger sélectivement le lévulinate est l'emploi d'acétate d'hydrazine dans l'éthanol.

Lors de la synthèse d'unités trisaccharidiques impliquées dans les lipopolysaccharides mineurs de *B. cepacia*, des unités rhamnopyranosiques sont également impliquées. Dans le cadre du trisaccharide  $\alpha\text{-D-Rhap}-(1\rightarrow4)\text{-}\alpha\text{-D-Galp}-(1\rightarrow3)\text{-}\alpha\text{-D-Rhap}$

<sup>93</sup> H.J. Koeners, J. V., J.H. van Boom *Tet. Let.*, **1980**, 21, 381-387



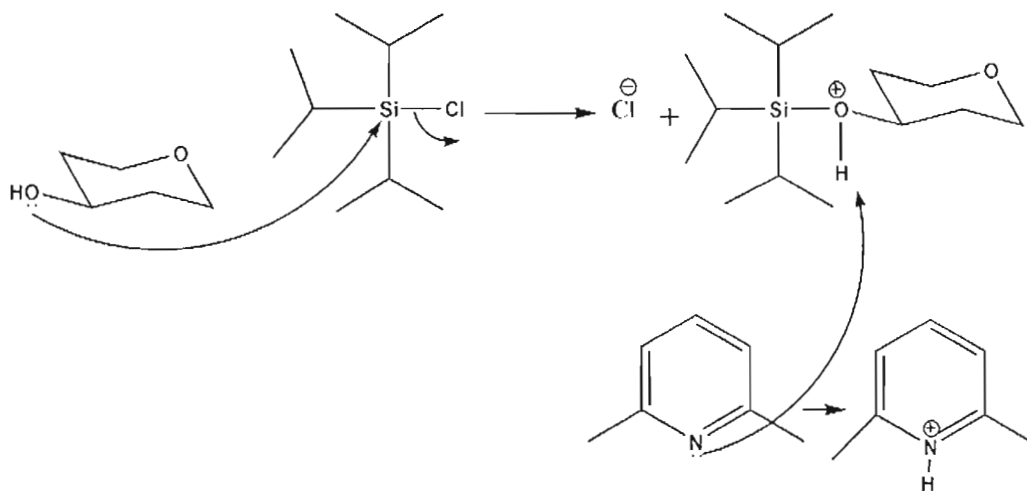
étudié dans ce projet, deux unités rhamnopyranosiques sont mises en jeu soit au titre de donneur soit au titre d'accepteur en position *O*-3. Pour la synthèse de cet accepteur, deux méthodes ont été utilisées et évaluées.



**Schéma 31** : Synthèse du rhamnoside accepteur 48

Lors d'une première méthode, le rhamnoside accepteur a été obtenu par une procédure de deux étapes en partant du rhamnoside de *p*-méthoxyphényle.

Le triisopropylsilyle (TIPS) est tout d'abord introduit sélectivement en position 3 du composé **57** de départ. Pour ce faire, du triisopropylsilyle trifluorométhanesulfonate est ajouté en présence de 2,6-lutidine. Cette base joue le rôle de piège à proton, évitant ainsi la formation d'acide chlorhydrique libre.



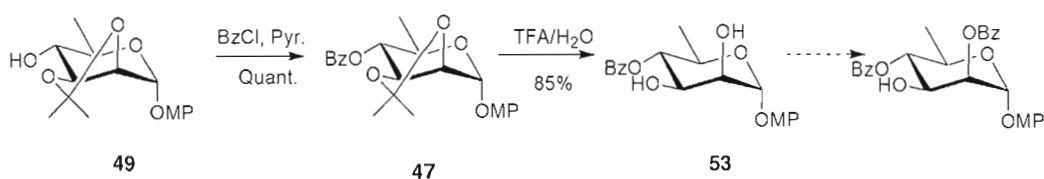
**Schéma 32** : Mécanisme de la protection par un silyle

Les positions *O*-2 et *O*-4 sont ensuite benzoylées dans les conditions classiques. Après avoir ajouté le triisopropylsilyle en position *O*-3, le sucre est dissout dans de la pyridine et du chlorure de benzoyle est ajouté (1.5 eq. par OH libre). La protection de la position *O*-2 et *O*-4 par les groupements benzoyles fait intervenir une catalyse nucléophile *via* la pyridine. L'attaque du chlorure de benzoyle conduit à la formation d'un intermédiaire très réactif acyle pyridinium qui réagit avec les fonctions hydroxyles de la position *O*-2 et *O*-4 pour donner le composé **54**.

L'analyse RMN  $^1\text{H}$  permet d'observer la dibenzoylation des positions *O*-2 et *O*-4 puisque l'on trouve les signaux caractéristiques des aromatiques entre  $\delta = 8.18$  -  $8.01$  ppm (6 protons) et  $\delta = 7.62$  -  $7.44$  ppm (4 protons), et le bon nombre de protons associés. La présence des protons du TIPS qui se situent à  $0.96$  ppm (18 protons) confirme son maintien dans la molécule. La RMN  $^{13}\text{C}$  confirme les résultats précédents par les signaux caractéristiques des aromatiques :  $\delta = 133.3, 133.1$  ppm ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ) et  $\delta = 130.0, 128.3$  ppm ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ) et ceux du TIPS à  $\delta = 17.8$  et  $12.5$  ppm.

Pour obtenir l'accepteur **55**, une déprotection sélective de la position *O*-3 est réalisée. Pour cela, le composé **54** est dissout dans du tétrahydrofurane (THF) puis est ajouté à  $0^\circ\text{C}$ , ce qui permet de sélectionner la position *O*-3, de l'acide acétique glacial pour arriver à un pH de 5 pour éviter la migration du benzoate de la position *O*-2 axial puis par la suite le fluorure de tétrabutylammonium (TBAF). La liaison Si-F (582 KJ/mol) étant plus forte que la liaison Si-O (531 KJ/mol) le silicium a plus d'affinité avec le fluorure ce qui permet de briser aisément la liaison silicium-oxygène, en passant par un intermédiaire silylé pentacoordiné.

L'analyse RMN  $^1\text{H}$  permet d'observer la disparition du TIPS. En effet le doublet à  $\delta = 0.94$  (18 protons) n'est plus visible. Le benzoate n'a pas migré puisque les signaux des protons *H*-1 et *H*-2 n'ont pas changé entre les composés **54** et **55**, par contre la multiplicité du signal du proton *H*-3 se complexifie et l'apparition d'un signal caractéristique d'un groupement alcool :  $\delta = 2.61$  ppm (1 proton) est observée à champ fort et les signaux caractéristiques du TIPS ont disparu.



**Schéma 33** : Synthèse du rhamnoside accepteur

La deuxième méthode utilisée pour obtenir le rhamnoside accepteur tirait profit d'une observation expérimentale effectuée précédemment dans le laboratoire relative à la réactivité inversée entre les positions *O*-2 axiale et *O*-3 équatoriale dans la série rhamnose par rapport à la série mannose. Ainsi, une procédure de 3 étapes en partant 2,3-diméthylacetal- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de *p*-méthoxyphényle menait dans cette stratégie à l'accepteur. (**Schéma 33**)

La position *O*-4 est tout d'abord protégée par un benzoate. Dans l'optique de limiter les éventuels problèmes de migration, les benzoates sont préférés aux acétates. L'analyse RMN  $^1\text{H}$  confirme la monobenzoylation puisque il y a un signal caractéristique des aromatiques qui sort à  $\delta = 9.19\text{-}8.06$  intégrant pour cinq protons.

L'acétal est ensuite clivé dans un mélange acide trifluoroacétique/eau à température ambiante.

Enfin, la protection régiosélective de la position *O*-2 du composé **55** permet idéalement d'obtenir l'accepteur.

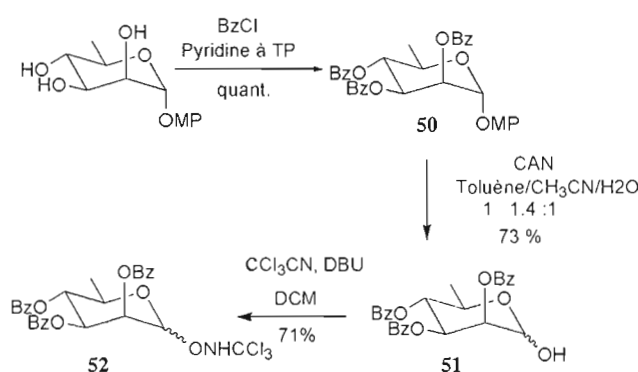
Ceci consiste à placer un acyle ici un benzoate en position *O*-2. Pour cela le composé **55** est dissout dans de la pyridine puis est ajouté du chlorure de benzoyle (1.2 eq. par OH libre) à  $0^\circ\text{C}$ .

Cependant, cette protection a été effectuée avec un rendement faible car on observe que le benzoate a migré de la position *O*-2 à la position *O*-3 équatoriale et par conséquent

plus stable. Il semble donc que l'hypothèse de réactivité accrue de la position axiale de rhamnose soit remise en question.

L'accepteur souhaité peut néanmoins être obtenu en favorisant une migration du groupe protecteur de 3 vers 2 par contrôle du pH et de la température ou par sonication. Une alternative pour placer un acyle en position axiale est le passage par un orthoester.

### 3.7.2 Synthèse de rhamnoside donneur



**Schéma 34** : Synthèse du rhamnoside donneur 52

Le trichloroacétimidate a été obtenu par une procédure en 3 étapes à partir du rhamnoside de *p*-méthoxyphényle (**Schéma 34**).

La tri-*O*-benzoylation du rhamnoside de *p*-méthoxyphényle est effectuée dans de la pyridine en présence de chlorure de benzoyle (1.5 équiv par OH libre).

L'analyse RMN  $^1\text{H}$  confirme la présence d'un tri-*O*-benzoylé **50** puisqu'on remarque les signaux caractéristiques des aromatiques :  $\delta = 8.17\text{-}7.27$  (intégrant pour 15 protons).

Une déprotection hautement sélective de la position anomérique est réalisée. Pour cela, le composé **50** est dissout dans un mélange toluène : acétonitrile : eau (1 : 1.4 : 1) choisi pour des raisons de solubilité des réactifs respectivement dans le toluène ou l'eau

(l'acétonitrile faisant le lien entre les deux) puis l'oxydant nitrate d'ammonium cérique (CAN) est ajouté. La déprotection fait intervenir un transfert d'électrons du cycle benzenique vers le cerium initialement à l'état d'oxydation +IV. S'ensuit l'attaque nucléophile de l'eau qui permet d'obtenir l'alcool anomérique.

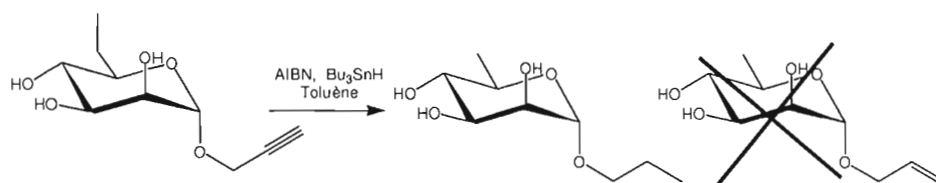
L'activation du sucre, qui correspond à la dernière étape, s'effectue avec un groupement trichloroacétimide. Celui-ci est choisi car c'est un excellent groupe partant ce qui nous intéresse pour la future glycosylation.

L'analyse RMN  $^1\text{H}$  permet de confirmer la présence du groupement trichloroacétimide. En effet on peut observer le proton situé sur l'azote du groupement à  $\delta = 8.83$  ppm (s, 1H, NH). On remarque également que le signal caractéristique du groupement alcool en position a disparu.

### 3.7.3 Problèmes stratégiques du rhamnose

La réduction radicalaire utilisée dans la synthèse de rhamnosides a de prime abord soulevé le problème du choix du groupement en position anomérique. Les groupements usuels fonctionnalisables allyle ou propargyle de part leur sensibilité aux réactions radicalaires ont été écartés. Un groupement semi permanent de type *p*-methoxyphényle est alors installé à la place. Cependant, les synthèses de fragments oligosaccharidiques nécessitent un nombre d'étapes non négligeable (une trentaine pour un trisaccharide) et le passage par un groupement semi permanent va à l'encontre d'une stratégie de synthèse courte. Ainsi, l'obtention du rhamnose libre à partir du D-mannose nécessite sept étapes, la fonctionnalisation de la position anomérique et la disposition de l'allyle *via* la déprotection du groupement *p*-méthoxyphényle sont tardives. Il a donc semblé opportun dans une logique d'optimisation de la synthèse du disaccharide cible  $\beta\text{-D-Galp-(1}\rightarrow\text{2)-}\alpha\text{-D-Rhap}$  de trouver une méthode compatible avec les conditions de réduction et l'affranchissement de l'utilisation d'un groupement semi permanent.

Les conditions radicalaires employant l'AIBN et l'hydru de tributylétain ont été utilisées pour réduire simultanément l'iodure en méthyle et un propargyle anomérique en allyle. Cependant, dans ces conditions, la réduction a conduit à l'alcane. (Schéma 35)



**Schéma 35** : Essai de réduction simultanée

Toutefois, un essai de réduction employant l'AIBN et l'hydru de tributylétain en présence du groupement allyle a été effectué. A partir du mannopyranoside d'allyle, l'alcool primaire en position 6 est converti en iodure par le mécanisme décrit précédemment puis la réduction radicalaire procède avec 84% de rendement. La déiodation a bien eu lieu comme le confirme l'apparition d'un signal doublet qui intègre pour les trois protons de  ${}^6\text{CH}_3$  à 1.22 ppm avec une constante  $J_{5,6} = 6.2$  Hz et le signal C-6 du  ${}^{13}\text{C}$  déplacé vers le champ fort à 17.2 ppm. Les signaux caractéristiques de l'allyle sont toujours présents, preuve de sa stabilité face aux conditions employées. Par conséquent, l'obtention du rhamnose disposant d'un groupe fonctionnalisable ne nécessite plus que cinq ou trois étapes au lieu de sept selon la procédure suivie pour la glycosidation de Fischer en début de synthèse.

Malgré cette amélioration, l'emploi d'un groupe semi permanent de type *p*-methoxyphényle n'est pas obsolète. En effet, l'intérêt de la fonctionalisation du rhamnoside par l'allyle réside uniquement dans le cas de la synthèse isolée du disaccharide  $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -D-Rhap. Cependant, pour la formation des autres fragments, le rhamnoside doit être converti en imidate pour glycosyler le précurseur de l'acide glucuronique central. L'efficacité de la synthèse du rhamnoside protégé par un *p*-methoxyphényle en position anomérique continue à faire de ce groupement un choix judicieux pour la synthèse de rhamnosides donneurs.

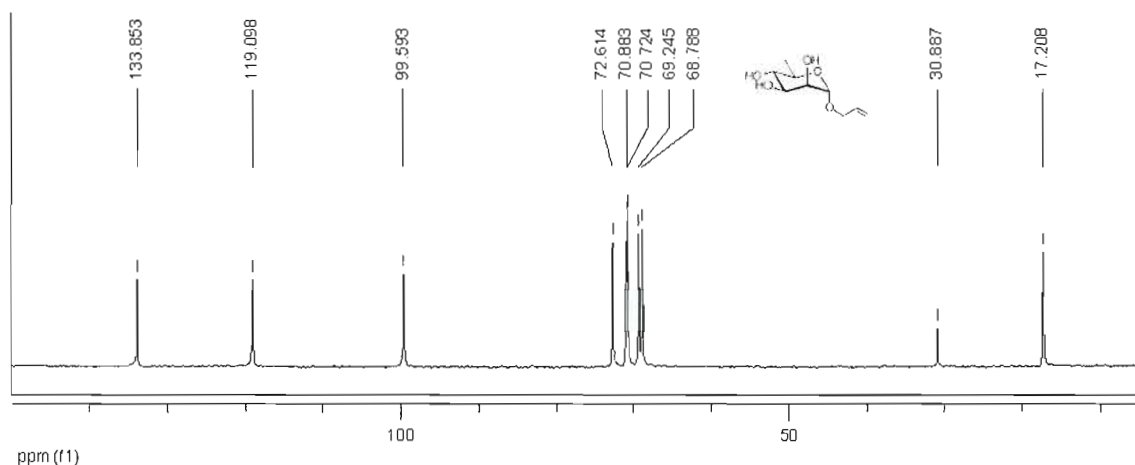


Figure 17 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  du D-rhamnoside d'allyle

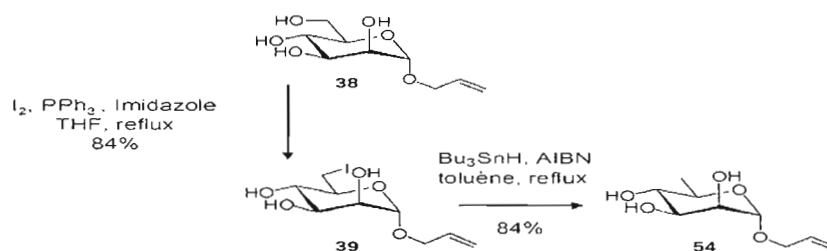
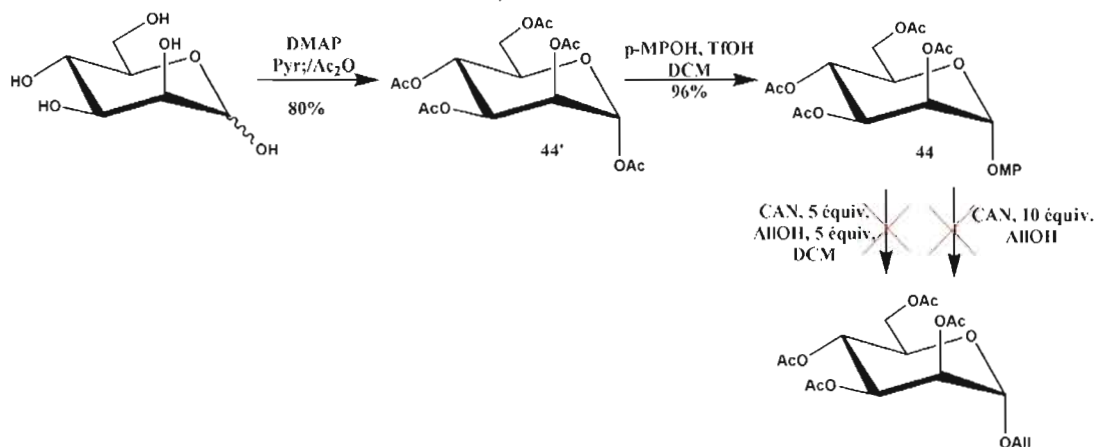


Schéma 36 : Synthèse du rhamnoside d'allyle

### 3.7.4 Etude d'une réaction de transglycosidation

Comme nous avons pu le voir dans la section précédente, l'intérêt du travail d'optimisation autour du rhamnose s'est concentré sur la versalité de la position anomérique. Dans une optique similaire, la transglycosidation permet à tout moment de la synthèse de pouvoir intervertir un groupement *p*-méthoxyphényle par un groupement allyle ou autre ce qui permet l'affranchissement des aléas liés à la glycosidation de Fisher (nombreux sous-produits, asservissement à l'usage de solvants alcooliques vs le *p*-methoxyphénol solide etc). Cela possède en outre l'avantage d'obtenir un mode opératoire 2 en 1 réunissant *in situ* une

réaction de déprotection et une autre de reprotection. L'optimisation de cette réaction est tentée sur le mannose.



**Schéma 37** : Essais de transglycosidation

La per-*O*-acétylation du D-mannose est effectuée dans un mélange d'anhydride acétique/pyridine en présence d'une quantité catalytique de 4-diméthylaminopyridine (DMAP), qui joue le rôle de catalyseur nucléophile, lors de la per-*O*-acétylation. La pyridine permet de capter le proton de l'alcool, ce qui crée un intermédiaire tétraédrique instable car l'atome de carbone triangulaire ( $sp^2$ ) du groupe carbonyle change d'hybridation pour devenir  $sp^3$ , entraînant le départ d'un groupement acétate. Le rôle du DMAP étant de former un intermédiaire acyle pyridinium encore plus réactif.

L'analyse RMN du proton permet d'évaluer l'abondance relative de l'anomère  $\alpha$  ( $\delta = 6.09$  ppm) par rapport à l'anomère  $\beta$  ( $\delta = 5.98$  ppm) dans un ratio 40/1.

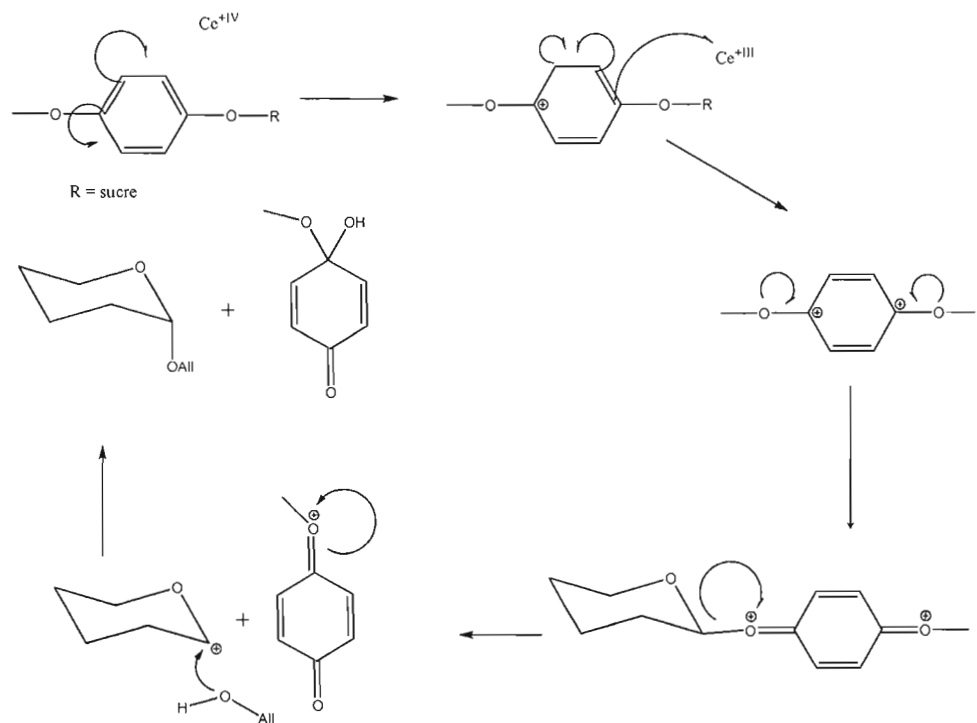
La protection de la position anomère par un groupement *p*-méthoxyphényle s'effectue lors d'une réaction de glycosidation. La catalyse par l'acide trifluorométhanesulfonique permet la protonation de l'oxygène du groupement hydroxyle en position anomérique. La réaction procède *via* la formation d'un intermédiaire oxycarbénium puis acétoxy carbénium, de part l'assistance anchimérique du groupement protecteur de type ester en position 2, ce qui permet uniquement l'attaque du *p*-méthoxyphénol sur le carbone anomère au niveau de la face  $\alpha$  pour obtenir le composé **44'** (d'anomérisation  $\alpha$ ) car étant également stabilisé par effet anomère. L'analyse RMN  $^1H$  permet d'observer la protection



sélective de la position anomérique par le *p*-méthoxyphényle grâce aux massifs situés dans la zone des aromatiques ( $\delta = 7.04\text{-}7.00$  et  $6.86\text{-}6.82$  ppm) et au signal singulet des trois protons du groupement méthoxy ( $\delta = 3.75$  ppm).

La transglycosidation est effectuée selon deux protocoles différents afin d'en évaluer la réactivité (**Schéma 38**). La première méthode consiste à mettre le composé **44** en présence de 10 équiv. de CAN dans l'alcool allylique. La seconde méthode est d'ajouter au composé **44** 5 équiv. de CAN ainsi que 5 équiv. d'alcool allylique dans du dichlorométhane. Toutefois aucun essai n'a permis d'obtenir le produit désiré. L'absence de conditions rigoureusement anhydres a probablement causé une déprotection de la position anomérique à cause de l'attaque nucléophile de l'eau.

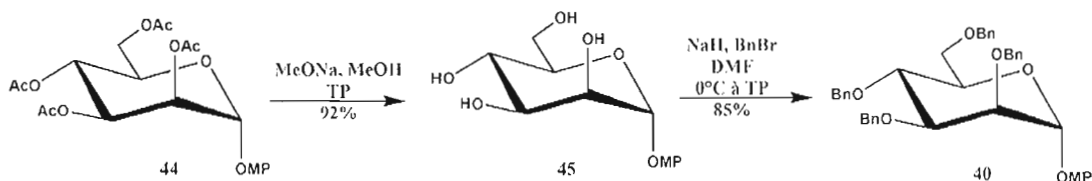
De plus, la présence de tâches sur la ligne de base de la chromatographie sur couche mince de la réaction révèle l'apparition de sous produits très polaires, ce qui est caractéristique d'un sucre libre. Le clivage des groupements acétates est donc envisageable dans ces conditions.



**Schéma 38** : Mécanisme de la réaction de transglycosidation

Dans l'optique d'optimisation de la transglycosidation, les réactions précédentes sont reproduites en conditions strictement anhydres. Tout d'abord, le mélange équimolaire de CAN et d'alcool allylique dans du dichlorométhane ne donne toujours aucun résultat. On peut supposer que 5 équiv. de CAN ne suffisent pas pour déprotéger la position anomérique, ou que la dilution d'alcool allylique trop importante.

Par contre, la réaction avec 10 équiv. de CAN dans l'alcool allylique a permis l'obtention du produit désiré avec un rendement appréciable de 63 %. Le fait que les acétates soit des groupements fragiles reste toutefois une hypothèse dans la baisse de ce rendement. De plus, la grande consommation en CAN nécessaire à cette réaction laisse à croire que le transfert d'électron mis en jeu affecte également l'alcool allylique pour générer de l'acroléine comme sous produit. Un essai sur un alcool non sensible à ce type d'oxydation tel que le méthanol serait donc à envisager pour mettre au point des conditions optimales.



**Schéma 39 :** Synthèse du 2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl- $\alpha$ -D-mannopyranside de *p*-méthoxyphényle

Afin de vérifier l'hypothèse de la labilité des acétates, des groupements benzyles ont été mis en place. Ces derniers résistent aux conditions oxydantes voire basiques pouvant être générées *in situ*. (Schéma 39)

Le 2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl- $\alpha$ -D-mannopyranside de *p*-méthoxyphényle a été obtenu par une procédure de 2 étapes en partant du 2,3,4,6-tetra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside de *p*-méthoxyphényle.

La désacétylation du mannoside est réalisée dans les conditions de Zemplén (méthanolate de sodium en solution dans le méthanol à pH 10). Le traitement de la réaction consiste à neutraliser le pH basique du milieu par un échange des ions sodium présents avec les protons d'une résine de type Amberlite IR-120, échangeuse d'ions  $H^+$ . L'analyse RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  caractérise cette déprotection par la disparition de tous les signaux liés aux groupements acétyles, les autres signaux étant déplacés à champ fort par rapport à ceux du composé 44'.

La tetra-*O*-benzylation s'effectue en dissolvant le composé **40** dans du diméthylformamide, en ajoutant de l'hydruire de sodium ainsi que du bromure de benzyle à 0°C sous azote. La déprotonation par l'hydruire de sodium se traduit par un dégagement gazeux de dihydrogène, ce qui permet d'estimer le temps nécessaire à cette déprotonation.

L'analyse RMN  $^1\text{H}$  confirme la présence des benzyles aux positions 2, 3, 4 et 6 puisque l'on remarque la présence de pics intégrant pour 20 protons dans la zone caractéristique des aromatiques ( $\delta = 7.43\text{-}7.19$  ppm).

## CHAPITRE IV

### ASSEMBLAGES SACCHARIDIQUES

#### 4.1 INTRODUCTION

L'unité minimale de tout oligosaccharide est le disaccharide, c'est-à-dire deux hydrates de carbone liés entre eux par une liaison nommée lien glycosidique. Cette liaison implique d'un côté un sucre réducteur activé au niveau de sa position anomérique, ou « donneur » et d'un autre côté un sucre réducteur ou « accepteur » nucléophile.

Dans ce chapitre, les unités nécessaires aux synthèses des cibles oligosaccharidiques du CBC, précédemment obtenus sous forme d'accepteur ou de donneur *via* l'installation d'un groupement protecteur anomérique activé par une réaction de glycosidation sont prêts à former un motif plus complexe par une réaction de glycosylation.

La première condition lors de la glycosylation est le choix du type de donneur à utiliser. Dans le **Tableau 3**, une série des donneurs couramment utilisés est associée avec son promoteur propre, c'est-à-dire le réactif nécessaire pour activer le donneur et à le rendre un meilleur groupe partant comme l'acide de Lewis  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  ou TMSOTf utilisé afin d'activer le donneur imidate<sup>94</sup>, le NIS<sup>95</sup> et/ou TfOH<sup>96</sup> pour le thioglycoside.<sup>97</sup> Actuellement l'imidate et le thioglycoside sont des donneurs plus utilisés, bien que la chimie traditionnelle ait

---

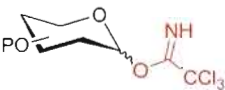
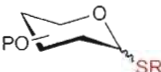
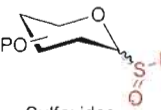

<sup>94</sup> Schmidt, R. R. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, 212-235.

<sup>95</sup> (a) Fraser-Reid, B.; Konradsson, P.; Mootoo, D. R. and Udodong, U., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1988**, 823; (b) Ratcliffe, A. J.; Mootoo, D. R.; Andrew, C. W. and Fraser-Reid, B., *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 7661.

<sup>96</sup> Konradsson, P. K.; Mootoo, D. R.; McDevit, R. E. and Fraser-Reid, B., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1990**, 270.

<sup>97</sup> Garegg, P. J. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **2004**, 59, 69-134.

largement employé les halogénures comme donneurs par le passé.<sup>98</sup> Cependant, plusieurs autres types des donneurs sont également utilisés chacun avec son propre avantage comme exemple : les pentenyle glycosides/orthoesters<sup>99</sup> ; l'époxyde glycale<sup>100</sup> ; l'activation de l'hydroxyle *in situ* (méthode de Gin)<sup>101</sup>, etc.... En outre, l'exploitation de la notion moderne « armé/ désarmé » permet d'associer deux donneurs ensemble, dont un contient le caractère de l'accepteur, mais est moins activé que l'autre grâce au choix du groupement protecteur en position 2. Dans le cas d'un électrodonneur, il y a une baisse de l'énergie d'activation et la réaction est accélérée.<sup>102</sup> (Voir 3.1.2)

Donneurs de glycosyle	Promoteurs
 Trichloroacétimidates	TMSOTf BF <sub>3</sub> .Et <sub>2</sub> O
 Thioglycosides	NIS / TfOH NIS / TMSOTf IDCP DMTST
 Sulfoxides	Tf <sub>2</sub> O
 Fluorures ou Bromures	AgOTf / HfCp <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>

**Tableau 3 :** Différents types de donneurs avec des promoteurs correspondants.

<sup>98</sup> Paulsen, H. *Angew. Chem. Int. Ed.; Engl.* **1982**, 155-173.

<sup>99</sup> Fraser-Reid, B.; Udodong, U. E.; Wu, Z.; Ottosson, H.; Merritt, J. R.; Rao, C. S.; Roberts, C.; Madsen, R. *Synlett* **1992**, 927-942.

<sup>100</sup> Danichefsky, S. J.; Bilodeau, M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 1381-1419.

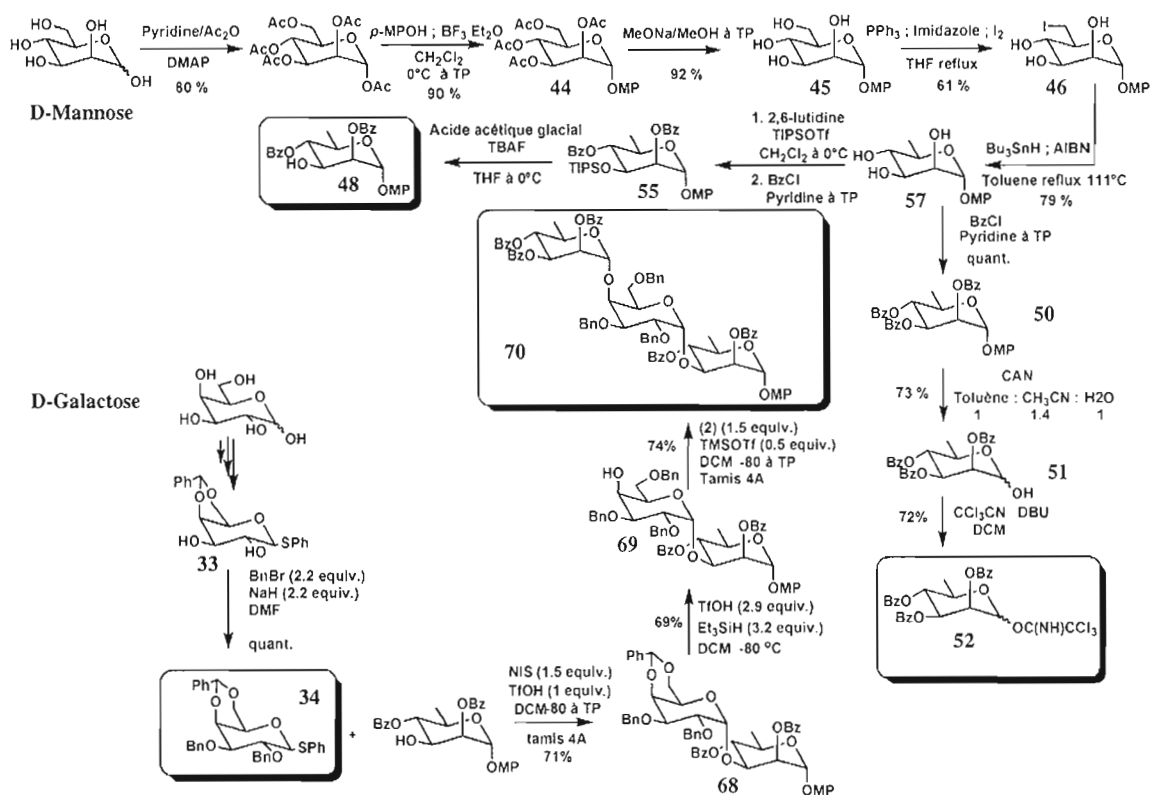
<sup>101</sup> Nguyen, H. M.; Chen, Y.; Duron, S. G.; Gin, D. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 8766-8772.

<sup>102</sup> Mootoo, D. R.; Date, V.; Fraser-Reid, B. O. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 2662-2663.

Parmi tous ces types de donneurs, le groupement imidate est le choix principal pour la glycosylation discuté précédemment dans le Chapitre III. Donc, la plupart des donneurs synthétisés sont tous sous la forme d'imidate et avec certains synthons supplémentaires sous la forme de thioglycoside.

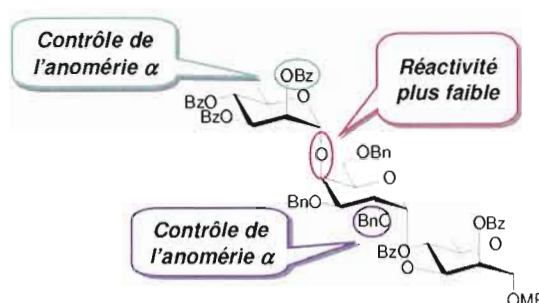
## 4.2 STRATÉGIE

#### 4.2.1 Synthèse de trisaccharide mineur



**Schéma 40 : Synthèse reccapitulative du trisaccharide 70**

Concernant le trisaccharide  $\alpha$ -D-Rhap-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -D-Rhap les synthèses des unités monosaccharidiques impliquées ont été précédemment détaillées dans le chapitre III (reccapitulatif **Schéma 40**).

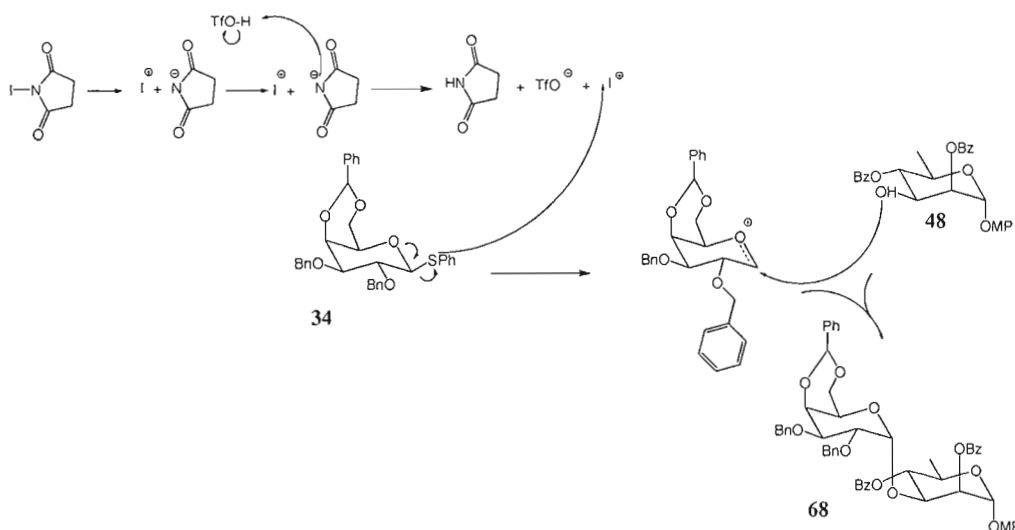


**Figure 18 :** Contraintes stratégiques associées à la synthèse du trisaccharide  $\alpha$ -D-Rhap-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -D-Rhap

La stratégie mise en place pour les assembler repose sur trois paramètres (**Figure 18**). Il est important de synthétiser de prime abord le disaccharide le moins favorisé. D'une part, la réactivité de l'hydroxyle axial en position *O*-4 du galactoside est moindre que celle de l'hydroxyle équatorial en position *O*-3 du rhamnoside. D'autre part, ce manque de réactivité est contrebalancé par le contrôle anchimérique de la réaction procuré par le groupement acyle en position 2 du rhamnoside donneur. Par contre, comme cela a été expliqué précédemment, l'anométrie  $\alpha$  du galactoside est la plus difficile à obtenir. Il a donc été envisagé de synthétiser en premier lieu le disaccharide  $\alpha$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -D-Rhap.

Un contrôle cinétique de la réaction est effectué par un strict contrôle de la température (-80°C à -20°C). Il a été en effet constaté une activation du galactoside donneur à très basse température. Lors de la glycosylation, l'anomère  $\alpha$  est quasi exclusivement obtenu grâce à la conjugaison de deux effets :

- La non-participation des groupements benzyles en position 2
- L'effet anomère de l'oxygène endocyclique



**Schéma 41** : Mécanisme de glycosylation en présence de donneur thiolé

L'utilisation de donneur thiolé requiert celle d'un activant et un coactivant. Le NIS, en présence d'acide triflique subit une dissociation permettant de fournir un cation iodonium (la force motrice de cette réaction étant la formation d'une molécule neutre de N-hydroxysuccinimide). L'affinité du soufre pour l'iodonium entraîne le départ de iodothiophényle. L'oxonium qui en résulte subit alors l'attaque nucléophile de l'accepteur. (Schéma 41)

L'analyse RMN  $^1\text{H}$  permet d'assurer qu'il s'agit d'un disaccharide par la présence de signaux caractéristiques du rhamnoside comme le  $\text{CH}_3$  en position 6 ( $\delta = 1.35$  ppm) et le  $\text{CH}_3$  du *p*-méthoxyphényle à  $\delta = 3.78$  ppm. Le signal caractéristique du galactoside est observable avec le *H*-7 du benzylidène à  $\delta = 5.33$  ppm. Il s'agit bien du disaccharide attendu car les constantes de couplage des protons anomériques sont  $J_{1,2} = 1.6$  Hz pour le proton anomérique du rhamnoside et  $J_{1,2} = 3.3$  Hz pour le proton anomérique du galactoside caractéristique d'un anomère  $\alpha$ , nouvellement formé.

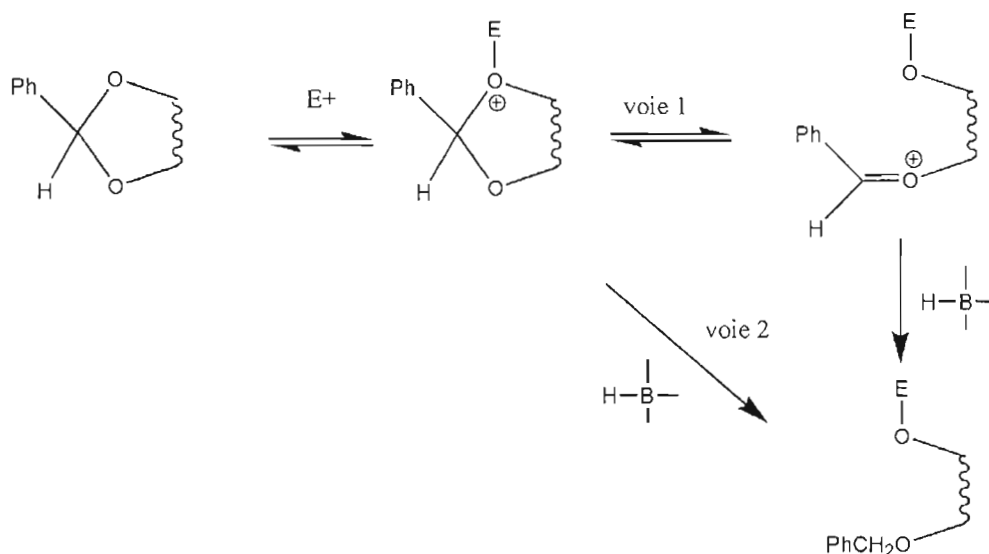
Le benzylidène de la partie galactopyranosidique du disaccharide  $\alpha\text{-D-Galp-(1}\rightarrow\text{3)-}\alpha\text{-D-Rhap}$  est ensuite régiosélectivement ouverte pour atteindre l'accepteur axial. Les conditions usuelles sont répertoriées dans le **Tableau 4**.



L'ouverture régiosélective du benzylidène réside sur la compétition entre deux paramètres. Quelque soit la condition utilisée, un mécanisme général peut être avancé. Une première étape consiste en l'attaque électrophile de l'acide (Lewis ou Bronsted) suivie d'un clivage réductif par un hydrure générant le benzyl ether. Dans le cas de l'utilisation d'un acide de Lewis de type  $\text{AlCl}_3$ , l'encombrement stérique va jouer en faveur d'une complexation au niveau de l'oxygène *O*-6 primaire, moins encombré que *O*-4. Cette gêne stérique n'a pas lieu en présence d'un électrophile tel que le proton. Le caractère plus basique de l'alcool secondaire favorise sa protonation. Il en résulte la formation d'un intermédiaire oxonium sur l'alcool primaire, ciblant alors l'attaque réductrice nucléophile (**Schéma 42**).<sup>103</sup>

Conditions d'ouverture	Position déprotégée
$\text{LiAlH}_4 - \text{AlCl}_3$	<i>O</i> -6
$\text{NaCNBH}_3 - \text{HCl}$	<i>O</i> -4
$\text{Et}_3\text{SiH} - \text{TfOH}$	<i>O</i> -4

**Tableau 4 :** Conditions usuelles d'ouverture régiosélective des benzylidènes



**Schéma 42 :** Mécanisme général d'ouverture régiosélective des benzylidènes.

<sup>103</sup> Hanessian S, Garegg, P. Carb. Prep. Chem., Marcel Dekker Inc. NY. 1997

La régiosélectivité de cette réaction est confirmée par l'analyse RMN de type COSY par la présence de tâches de couplage entre les signaux correspondant aux *H*-6 et celui de l'hydroxyle.

Une fois l'accepteur disaccharidique obtenu, une glycosylation finale de l'imide rhamnoside donneur en présence du promoteur TMSOTf aux conditions de contrôle cinétique précédemment utilisées permet l'obtention du trisaccharide avec un rendement de 74%. Ce trisaccharide a été effectué en quinze étapes avec un rendement global de 17%. L'anomérisation  $\alpha$  du dernier lien de glycosylation formé est confirmée par l'analyse RMN du proton. En effet, outre l'apparition de nouveaux signaux aromatiques correspondants aux benzoates du donneur, la constante de couplage faible associée au carbone anomérique du dernier fragment rhamnosique est de 3.5 Hz. De même, on retrouve les signaux du carbonyle en analyse RMN du carbone (165.9 – 165.4 ppm) ainsi que trois signaux de carbone anomérique au déplacement inférieur à 100 ppm (99.3, 98.2 et 96.5 ppm), caractéristique d'une anomérisation  $\alpha$ .

#### 4.2.2 Synthèse de trisaccharide majeur

Le trisaccharide  $\beta$ -D-Glcp-(1 $\rightarrow$ 3)-[ $\alpha$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\alpha$ -D-GlcpA a été l'objet de deux stratégies de synthèse différentes reposant comme cela a été vu l'utilisation directe de l'acide glucuronique ou de son précurseur glucosidique.

Dans le premier cas, l'acide glucuronique anomériquement protégé par un allyle est obtenu soit à partir du synthon 4,6-benzylidène- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle utilisé dans la synthèse précédente soit directement soumis à la glycosidation de Fischer, en présence de micro-ondes. En présence d'anhydride acétique, l'acide est lactonisé entre les positions 3 et 6. Cela conduit à une protection par un benzoate de la position *O*-4 et d'une inversion de configuration  $^4C_1$  à  $^1C_4$  du cycle. Il en résulte que l'hydroxyle en position *O*-2 devient axial, ce qui diminue la réactivité de cet hydroxyle et constitue le point faible de cette stratégie.

Suite à la glycosylation, une ouverture douce de la lactone avec permet d'obtenir l'accepteur en position *O*-3 et de glycosyler le glucoside donneur, comme précédemment. Expérimentalement, la lactone à partir de l'acide glucuronique dérivé du glucose n'a pas pu être obtenue hors de tout doute.

Cette voie doit être poursuivie dans des travaux ultérieurs avec l'acide glucuronique commercial allylé.

Dans un second cas, la synthèse des glucosides accepteurs régiosélectivement protégés a permis de mettre en évidence une réactivité plus importante de la position *O*-3. Cette caractéristique peut être exploitée dans une synthèse « one-pot » du trisaccharide à partir du synthon 4,6-benzylidène- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle.

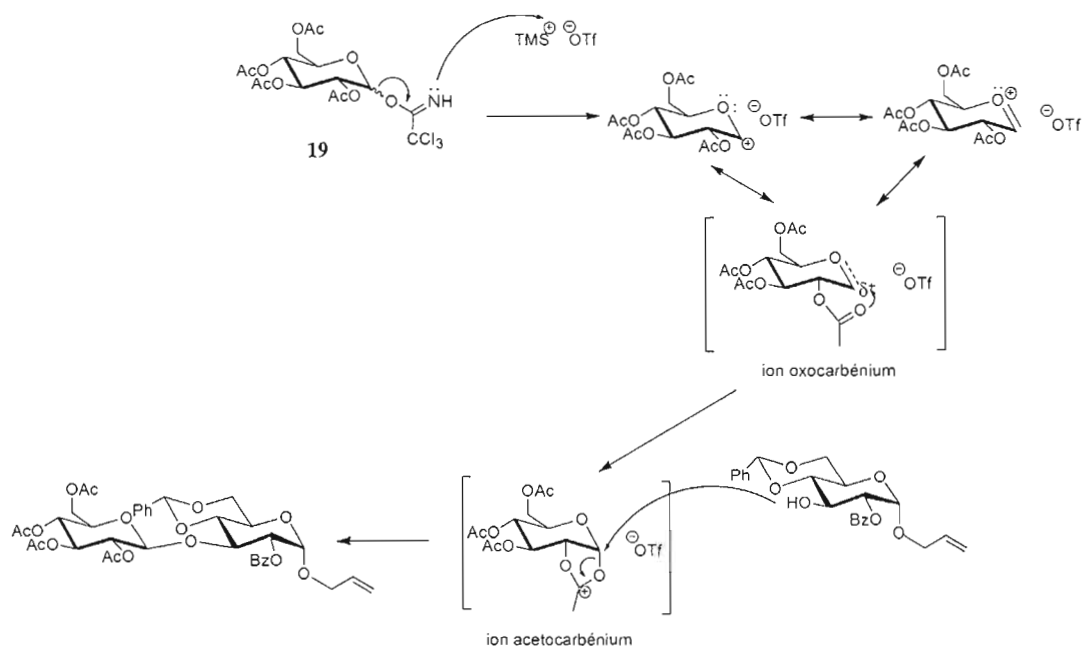
#### 4.2.3 *Vers un pentaccharide*

Suite à l'obtention du trisaccharide, une déprotection sélective du groupement TIPS en position *O*-3 de la partie glucosidique permet de générer un accepteur. Le disaccharide  $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 6)- $\alpha$ -D-Manp, précédemment obtenu avec 48% de rendement lors d'une glycosylation faisant intervenir le thiophényllegalactopyranoside donneur et le mannoside accepteur primaire dont la synthèse a été détaillée au chapitre III, peut dès lors être utilisé comme donneur au cours d'une glycosylylation (aux conditions usuelles) avec une transformation subséquente en imidate pour atteindre le pentasaccharide cible. L'avantage de cette formation par « block » est de s'affranchir du nombre d'étapes important généré par une synthèse linéaire. (**Schéma 4**)

### 4.3 STRATÉGIE DE LA SYNTHÈSE VERS COMPLEXE *B CEPACIA*

#### 4.3.1 *Synthèse de laminaribiose*

Lors de la glycosylation (**Schéma 43**), le promoteur, par l'intermédiaire de l'atome de silicium, se comporte comme un acide de Lewis, ce qui permet l'attaque du doublet de l'azote. Le départ du trichloroacétamide permet la formation d'un intermédiaire ion oxycarbénium qui par participation anchimérique du groupement acétyle en position *O*-2 conduit à la formation d'un ion acétoxycarbénium. Cet intermédiaire bloque la face  $\alpha$ , ne permettant ainsi l'attaque de l'hydroxyle en position 3 de l'accepteur que sur la face  $\beta$  du donneur de glucosyle, pour former le laminaribioside avec 70% de rendement (**Schéma 43**).



**Schéma 43 :** Mécanisme de glycosylation impliquant un imidate donneur

L'analyse par RMN  $^1\text{H}$  à l'aide d'une expérience bidimensionnelle homonucléaire de type COSY met en évidence les signaux représentatifs du benzyldène ainsi que trois systèmes de spin indépendants :

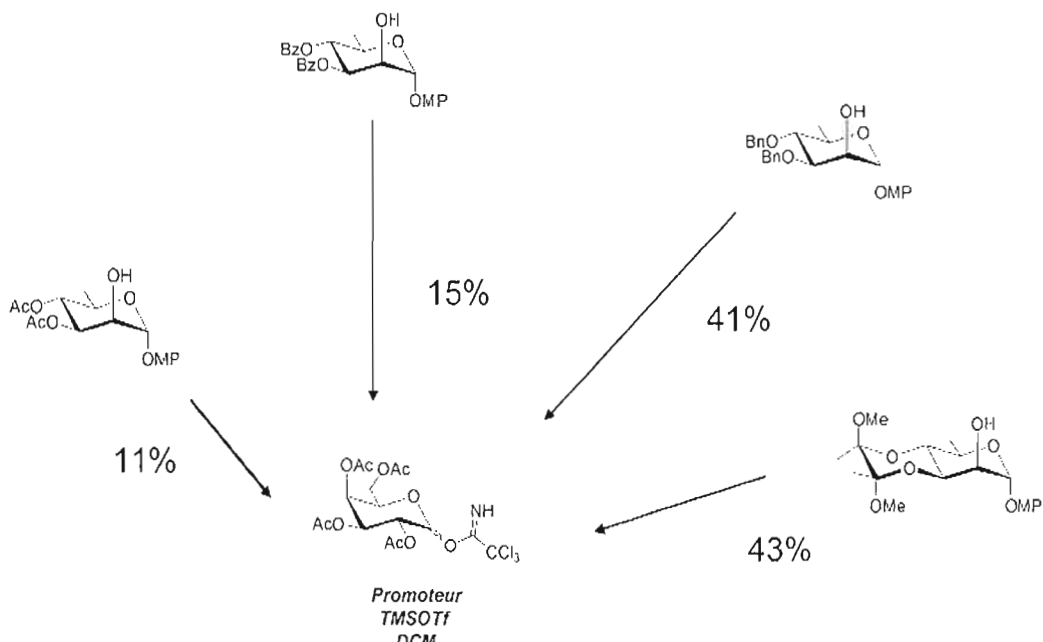
- le système allylique
- le sucre réducteur, dont le déplacement chimique ( $\delta = 4.41$  ppm) et le changement de multiplicité en triplet du signal attribué à  $H-3$  sont caractéristiques de la glycosylation de cette position.
- le sucre non réducteur, dont le doublet  $H-1$  ( $\delta = 4.77$  ppm,  $J_{1,2} = 7.4$  Hz), correspond à une position anomère glycosylée de configuration  $\beta$ -D.

La caractérisation de la structure du disaccharide **62** valide la formation d'un lien glycosidique  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3) entre les deux unités glucosyles.

Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  présente les signaux représentatifs de la structure de la molécule et notamment, le signal C-1<sup>II</sup> ( $\delta = 100.8$  ppm) qui correspond à un carbone anomère glycosylé de configuration  $\beta$ -D.

#### 4.3.2 Synthèse de disaccharides

Au cours de ce projet, un certain nombre de disaccharides ont été également synthétisés, intervenant soit dans la synthèse d'un trisaccharide, soit en tant que cible disaccharidique. C'est notamment le cas du disaccharide  $\beta$ -D-Galp-(1-2)- $\alpha$ -D-Rhap.



**Schéma 44** : Résultats des glycosylations avec divers rhamnosides accepteurs

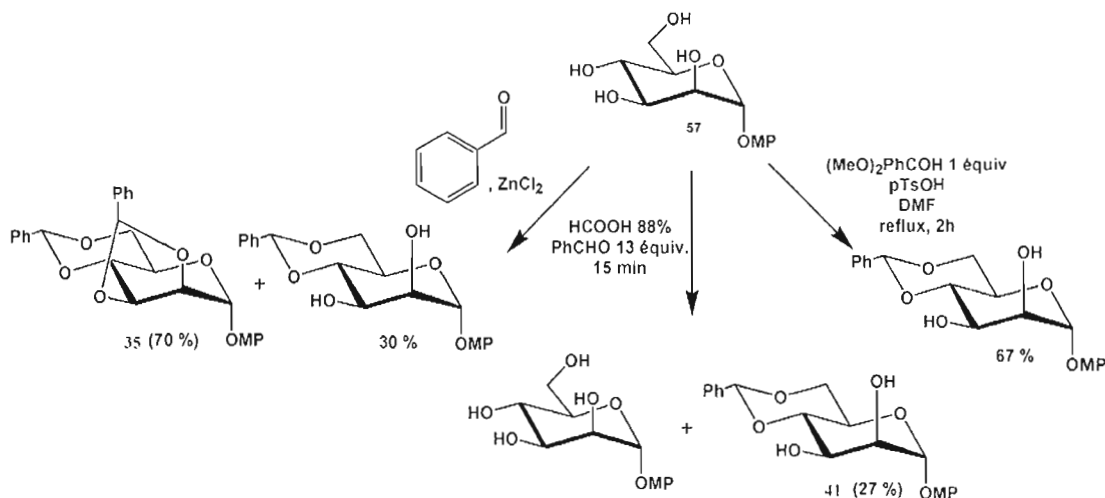
En sachant la faible nucléophilie de la position 2 du rhamnoside, l'attaque a été produite à très basse température de  $-80$  °C afin de stabiliser l'acétoxycarbénium et en augmentant à  $0$  °C pour une attaque préférentielle nucléophile. Plusieurs accepteurs ont été testés dans les mêmes conditions réactionnelles et dans chaque cas, des rendements très faibles à médiocres ont été obtenus (**Schéma 44**). Une désactivation de la nucléophilie de

l'hydroxyle *O*-2 par les groupements protecteurs en positions *O*-3 et *O*-4 de type acyle (attracteurs) *versus* une activation des groupements alkyles donneurs voire du bisacétal, conjugué à une antipléinarité de la liaison  $\sigma$  en *O*-3, peuvent expliquer les résultats obtenus. En outre, l'accepteur avec des groupements protecteurs benzylé en 3 et 4 afin de jouer sur l'encombrement stérique dans le but d'éviter l'attaque sur l'intermédiaire d'orthoester.

Toutefois, si l'on compare globalement les résultats de glycosylation obtenus avec le rhamnose avec ceux des autres sucres avoisinant généralement les 70%, on peut conclure à un comportement particulier inhérent au rhamnose (voir section 3.7.4).

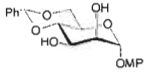
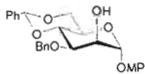
#### 4.3.3 Mannose vs Rhamnose

Lors de la glycosylation entre le galactose donneur et le rhamnose, de faibles rendements ont été obtenus quel que soient les accepteurs testés. Trois sous-produits ont régulièrement été observés. La formation d'un orthoester, un couplage « tête-tête » du donneur et son hydrolyse. La glycosylation ayant lieu sur l'hydroxyle axial du rhamnose, c'est-à-dire une position peu réactive, le rhamnoside accepteur est donc trop faible comparativement au galactoside donneur, ce qui explique la formation du disaccharide impliquant deux unités galactosidiques ainsi que la formation de l'orthoester. L'hydrolyse du donneur illustre la subtilité de la chimie des sucres. Bien que travaillant en conditions strictement anhydres, une hydrolyse partielle du donneur ne peut être évitée. Cependant, la nature du donneur peut influencer ce résultat. En effet, l'utilisation d'un bromure plutôt que d'un imidate a conduit à une hydrolyse quasi-totale du donneur. Ne pouvant agir davantage sur le donneur, une utilisation d'un mannoside donneur *versus* un rhamnoside a été envisagée pour comparer la réactivité de ces glycosylations.



**Schéma 45 :** Protection régiosélective par un benzylidène de mannopyranoside

La procédure standard utilisée pour protéger les positions 4 et 6 du glucopyranoside d'allyle en présence de benzaldéhyde et de chlorure de zinc sans contrôle du nombre d'équivalent a conduit à la formation d'un acétal à cinq membres entre les positions 2 et 3 pour former le composé **34** avec 70% de rendement. Le benzylidène recherché n'étant obtenu qu'avec 30% de rendement. Une nouvelle approche utilisant treize équivalents de benzaldéhyde avec de l'acide acétique, suivi d'une précipitation dans une solution de bicarbonate de soude, fournit le produit désiré avec un rendement de 27%. Le produit majoritaire étant le produit de départ. La conversion est donc totale mais la réaction ne peut être optimisée car une dégradation rapide du produit final est observée après quinze minutes. Cependant, l'intérêt de cette réaction réside en sa rapidité et l'obtention du produit par précipitation. Une stratégie intermédiaire utilisant un équivalent de diméthoxybenzaldéhyde à reflux pendant deux heures dans le DMF en présence d'acide *p*-toluène sulfonique catalytique a permis en utilisant le traitement par précipitation précédent d'obtenir le benzylidène mannoside souhaité avec 67% de rendement. (Schéma 45)

Donneur	Accepteur	Promoteur	Solvant	T (°C)	rendement
imidate		TMSOTf	DCM	0	17 %
imidate		TMSOTf	DCM	0	48%

**Tableau 5 : Résultats de glycosylation avec différents mannosides accepteurs**

Ce composé est alors benzylé selon la procédure habituelle, utilisant un équivalent de bromure de benzyle. La position équatoriale plus réactive est protégée quasi exclusivement.

Le choix du groupement benzyle a été dicté par les meilleurs résultats obtenus avec ce groupe lors des différentes glycosylations avec le rhamnose. Le composé dihydroxylé et le composé monohydroxylé ont ensuite été glycosylés dans des conditions identiques. La RMN du proton confirme la formation d'un lien d'anométrie  $\alpha$  par le calcul de la constante de couplage du proton anomérique  $J_{1,2} = 3.6$  Hz. L'analyse bidimensionnelle de type COSY certifie la glycosylation en position 2. De plus, la multiplicité du signal correspondant au  $H-2$  du mannose est de type dd, ce qui ne serait pas le cas si l'hydroxyle était libre. En dépit de la faible réactivité de la position 2 du mannose, le rendement de 17% obtenu avec l'accepteur dihydroxylé dépasse déjà les résultats obtenus avec les rhamnosides accepteurs monohydroxylés protégés par des groupements acyles en positions 3 et 4. Ce qui semble déjà indiquer une réactivité accrue du mannoside accepteur. Néanmoins, ce résultat peut indiquer également que la nature des groupements portés par l'hydroxyle en position 3 influence la réactivité de celui en position 2. Ainsi, la présence de groupements acyle semble désactiver l'hydroxyle libre, contre une influence neutre d'une position restée libre voire activatrice d'un groupement alkyle. Ceci revient à appliquer les effets « armed-disarmed » à l'alcool  $O-3$ .



Si cet effet est présent, il n'en reste pas moins que la réactivité accrue du mannose par rapport à celle du rhamnose est confirmée par le deuxième essai de glycosylation impliquant le composé benzylé. En effet, dans ces conditions, le rendement obtenu dépasse le meilleur rendement obtenu par ailleurs avec le rhamoside benzylé. (**Tableau 5**)

Dans une stratégie ultérieure, il serait donc opportun de considérer cette alternative pour obtenir le disaccharide  $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -D-Rhap.

## CHAPITRE V

### CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PERSPECTIVES

#### 5.1 CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Des disaccharides  $\beta$ -D-Galp-(1-2)- $\alpha$ -D-Rhap ont été synthétisés et des comparaisons entre des accepteurs différemment protégés ont permis de mettre en exergue des comportements réactionnels. La position axiale de l'hydroxyle à glycosyler rend cette position faiblement réactive. La nature électronique (attracteur/donneur) du groupement protecteur de l'hydroxyle adjacent à la position glycosylée de l'accepteur influence (active/desactive) la réactivité de cette dernière. L'utilisation du mannose à la place du rhamnose dans cette glycosylation semble donner de meilleurs résultats de glycosylation. L'activation du donneur galactoside à -80°C donne les meilleurs résultats.

Une synthèse d'un trisaccharide issu d'un motif mineur de *B. cepacia* a été réalisée et optimisée. Les étapes clé de glycosylation ont donné d'excellent rendements de 70% et un bon contrôle de l'anomérisation a été obtenu.

Concernant, le motif de répétition heptasaccharidique du Cepacian, les unités disaccharidiques et monosaccharidiques nécessaires à l'obtention du trisaccharide central ont été synthétisées. Le disaccharide  $\beta$ -D-Galp-(1-6)- $\alpha$ -D-Manp nécessaire à la formation du pentasaccharide a été synthétisé avec 47% de rendement sur l'étape de glycosylation.

Une bibliothèque de précurseurs glucosidiques de l'acide glucuronique orthogonalement protégés a été créée. Les réactions de protections sélectives directes des positions O-2 et O-3 se sont heurtées à la réactivité similaire et faible de ces positions. Des voies de synthèse alternatives ont alors été utilisées (passage par stannylidène).

La stratégie impliquant l'acide glucuronique comme synthon de départ, bien que peu exploitée, semble intéressante à poursuivre, si la réaction de lactonisation est réussie.

L'adaptation de la réaction de glycosylation de Fischer au four à micro-onde a permis d'effectuer pour la première fois cette réaction sur l'acide glucuronique libre. Cela ouvre un champ d'investigation et d'optimisation des réactions dans l'avenir de ce projet.

La synthèse du trisaccharide « one pot » est également envisageable en jouant sur la réactivité des donneurs (effets « armed-disarmed ») et celle, relative, des positions libres de l'accepteur.

## 5.2 PUBLICATIONS

2-4 Mai 2007 : *Xe Colloque Annuel des étudiants chercheurs en chimie et biochimie de l'UQAM*

- 1) **Présentation Orale** : En route vers un vaccin synthétique contre *Burkholderia cepacia* impliqué dans la fibrose kystique. T. C. Shiao, S. Damerval, R. Fauré et R. Roy
- 2) **Présentation Affiche** : En route vers un vaccin synthétique contre *Burkholderia cepacia* impliqué dans la fibrose kystique. T. C. Shiao, S. Damerval, R. Fauré, D. Lagnoux, D. Giguère et R. Roy

**Publication** : En route vers un vaccin synthétique contre *Burkholderia cepacia* impliqué dans la fibrose kystique. S. Damerval et R. Roy. Uqam, Sciences express. 2008, **7**, 9

- 3) 9-11 Novembre 2007 : *XVIIIe QOMSSBOC, Montréal*

**Présentation Affiche** : Synthetic vaccine against *B. cepacia*, S. Damerval, T.C. Shiao, R. Fauré et René Roy

**2007** : Fauré R., Shiao T.C., Damerval S. et Roy R.\*, *Tetrahedron Letters*, (**48**), pp 2385-2388

## CHAPITRE VI

### PARTIE EXPERIMENTALE

#### 6.1 GENERALITES

##### *6.1.1 Solvants*

Les solvants sont distillés<sup>104</sup> comme indiqué ci-dessous puis conservés sur tamis moléculaire, sur hydroxyde de potassium ou sur hydrure de calcium. Le dichlorométhane est distillé sur anhydride phosphorique ( $P_2O_5$ ). La pyridine est distillée sur hydroxyde de potassium. Le toluène est distillé sur hydrure de calcium. Le THF est distillé sur sodium/benzophénone et l'éther sur hydrure de lithium-aluminium. Le DMF est distillé sur ninhydrine puis conservé sur tamis moléculaire. L'acétone est séchée sur sulfate de calcium. Le méthanol est distillé sur sodium métallique et conservé sur tamis moléculaire. Lors des étapes de glycosidation et de glycosylation, les solvants utilisés ont été fraîchement distillés. Les solvants employés pour la chromatographie sont de qualité ACS et n'ont pas été distillés avant leur utilisation. Les solvants sont évaporés sous pression réduite (trompe à eau).

##### *6.1.2 Chromatographies*

L'avancement des réactions est suivi par chromatographie sur couche mince (CCM) sur plaque de gel de silice (Merk 60 F<sub>254</sub>) en utilisant des systèmes d'éluants appropriés. La révélation est effectuée par irradiation sous lumière UV ( $\lambda = 254$  nm) et par trempage dans des révélateurs spécifiques, un mélange acide (acide sulfurique/méthanol/eau : 5/45/45 ; v/v/v) pour les composés protégés ou une solution oxydante de molybdate (préparée à partir de 25 g de molybdate d'ammonium et de 10 g de sulfate cérique dissout dans 900 ml d'eau et 100 mL d'acide sulfurique concentré), puis par chauffage à 300 °C. Les séparations par chromatographie rapide sont réalisées sous pression d'air comprimé sur colonne de gel de

---

<sup>104</sup> Perrin, D.D; Armarego, W. L. F. and Perrin, D. R. Purification of Laboratory Chemicals. 1997, Pergamon Press Pub.

silice (Silice-P Flash Silica Gel, Silicycle) avec l'éluant indiqué. L'éluant utilisé pour la séparation des composés « OH libre » est le suivant : · gradient A : acétonitrile puis acétonitrile / eau : 95 : 5 à 90 : 10.

### *6.1.3 Analyses physico-chimiques*

#### *6.1.3.1 Généralités*

Les pouvoirs rotatoires sont mesurés sur un polarimètre JASCO P-1010 et sont enregistrés à la température correspondante. Les points de fusion sont mesurés sur un appareil de type Fisher Jones et ne sont pas corrigés. Les lyophilisations sont effectuées sur un appareil Freeze Mobile 24 (Virtis). Les mesures de masse nominale sont réalisées sur un instrument LC-MSD et les mesures de masses exactes par spectroscopie de masse haute résolution sont réalisées sur un instrument LC-MSD-TOF (liquid chromatography mass spectrometry time of flight) modèle 6210 d'Agilent technologies par le Laboratoire de Spectrométrie de Masse de l'Université de Montréal en ionisation par électrospray (ESI) et par le Laboratoire « Plateforme analytique pour molécules organiques » de l'Université du Québec à Montréal. La source utilisée sur le MS-TOF est l'électrospray en mode positif. La source utilisée sur le MS-TOF est l'électrospray en mode positif avec la condition de la source (capillaire à 4000V pour le scan ; température du gaz à 350 °C ; débit du gaz à 12 L/min ; nébuliser à 35 PSI) et, avec la condition du MS (fragmenteur à 100V ; skimmer à 60V). Un volume de 1 µL est injecté en utilisant une phase mobile de ACN/H<sub>2</sub>O 50% avec 0.1% d'acide formique. Les analyses élémentaires sont réalisées par Laboratoire d'Analyse Élémentaire de l'Université de Montréal.

#### *6.1.3.2 Spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN)*

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) proton (<sup>1</sup>H) et carbone(<sup>13</sup>C) sont enregistrés avec des appareils Varian-Gemini 2000 ou Varian-Innova AS600. Les

spectres du  $^1\text{H}$  sont enregistrés à une fréquence de 300 MHz ou 600 MHz et ceux du  $^{13}\text{C}$  à 75 MHz ou 150 MHz.

Les déplacements chimiques ( $\delta$ ) sont exprimés en partie par million (ppm) par rapport au tétraméthylsilane utilisé comme référence interne et en utilisant comme solvants ceux indiqués ; les constantes de couplages ( $J$ ) sont mesurées en Hz. La notation utilisée pour la description des spectres est la suivante : s (singulet), sl (singulet large), d (doublet), dd (doublet de doublet), m (massif ou multiplet),  $\text{H}_{\text{arom.}}$  (protons aromatiques),  $\text{C}_q$  (carbone quaternaire) et  $\text{C}_{\text{arom.}}$  (carbone aromatique).

Pour les composés libres, les échantillons sont analysés après lyophilisation dans  $\text{D}_2\text{O}$  99.9 %. Les mesures sont effectuées dans l'eau lourde,  $\geq 99.97$  %. La référence utilisée est alors le pic résiduel de l'eau pour les spectres de protons (étalonné par l'équation  $\delta = 5.051 - 0.0111T$  où  $T$  correspond à la température au moment de l'acquisition en  $^\circ\text{C}$ , et l'acétone de qualité spectrale est utilisé pour les spectres du  $^{13}\text{C}$  (référence interne : signal méthyle de l'acétone étalonnée à  $\delta = 29.8$  ppm).<sup>105</sup>

Pour les composés protégés et/ou solubles dans le chloroforme, la référence utilisée est alors le signal du  $\text{CHCl}_3$  pour les spectres de protons (étalonné à  $\delta = 7.27$  ppm quelque soit la température utilisée) ou la raie centrale du signal du  $\text{CDCl}_3$  pour les spectres du  $^{13}\text{C}$  (étalonné à  $\delta = 77.0$  ppm). Les expériences bidimensionnelles homo- ou hétéronucléaires sont calibrées par analogie avec les spectres à une dimension correspondants.

L'assignation des protons est faite à l'aide de l'expérience de corrélation de déplacement chimique bidimensionnelle homonucléaire de type COSY (CORrelated SpectroscopY). Ces séquences permettent de mettre en évidence les noyaux de même nature possédant entre eux un couplage scalaire plus ou moins fort. Tandis que l'assignation des carbones est complétée par des expériences de type DEPT (Distortionless Enhancement

---

<sup>105</sup> Gottlieb, H. E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A. (1997) RMN chemical shifts of common laboratory solvents as trace impurities. *J. Org. Chem.*, **62**, 7512-7515.

by Polarization Transfer) qui permet de différencier les carbones quaternaires, les carbones secondaires et les carbones liées à un nombre impair de protons (carbones primaires et tertiaires), APT (Attached Proton Test) qui permet d'identifier les carbones liées à un nombre pair et impair de protons et, la corrélation de déplacement chimique bidimensionnelle hétéronucléaire inverse de type HETCOR (Heteronuclear Chemical Shift Correlation) permettant de mettre en évidence deux noyaux de natures différentes possédant entre eux un couplage plus ou moins fort. L'anomerie en série D-mannone est déterminée par l'expérience de  $^{13}\text{C}$  non découplé de type HSQC (Heteronuclear Simple Quantum Correlation) permettant la visualisation de la multiplicité entre  $^{13}\text{C}/^1\text{H}$  grâce au couplage  $^1J_{\text{C1-H1}}$  et permet d'associer le carbone anomérique au proton qui lui est lié. La valeur de la constante de couplage est corrélée avec la stéréochimie de la liaison (ca. 170 Hz pour l'anomère  $\alpha$ ).

## 6.2 PROTOCOLES GENERAUX

### 6.2.1 Protocole A : Transestérification ou de-O-acétylation par le méthanolate de sodium ou « zemplén »

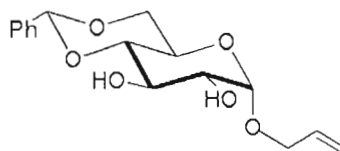
Le composé est dissout dans du MeOH sec (0.1M) ou directement dans une solution de méthanolate de sodium dans du méthanol distillé (pH 10). Une quantité catalytique (généralement 0.1 équivalent) de méthanolate de sodium est ajoutée, maintenant la solution à pH 9-10, et le mélange est agité à température ambiante sous atmosphère d'azote. Lorsque la déprotection est terminée, la solution est neutralisée par de la résine Amberlite IR-120 ( $\text{H}^+$ ), filtrée et concentrée. Si nécessaire, le produit est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice par gradient A.

### 6.2.2 Protocole B : Glycosidation de Fischer appliquée au réacteur à micro-onde<sup>106</sup>

Dans un tube sous pression, du glycopyranose (100 mg) est dissous dans 1.0 mL de l'alcool et de la résine Amberlite (100 mg) est ajouté. Le tube est scellé et mis au micro onde pour 10 minutes à 120°C. Le mélange est ensuite filtré sur coton, puis concentré. Une recristallisation est ensuite effectuée ou une acétylation suivie d'une purification sur gel de silice flash.

## 6.3 MODE OPERATOIRE ET CARACTERISATIONS

### 4,6-*O*-benzylidène- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle (1).



A une solution de D-glucose (10.0 g, 55.5 mmol, 1 équiv.) dans l'alcool allylique (80 mL), fraîchement distillé, est ajouté de l'acide trifluorométhanesulfonique (1.05 mL, 9.3 mmol, 0.17 équiv.). Après 4 h à reflux, le milieu réactionnel est neutralisé par ajout de triéthylamine (1.3 mL), concentré puis co-évaporé plusieurs fois au toluène.

Le résidu est repris dans le benzaldéhyde (150 mL) et du chlorure de zinc (15.436 g, 111 mmol, 2 équiv.), préalablement séché à la flamme, est ajouté. Après 48 h, la solution est

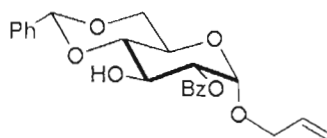
---

<sup>106</sup> Bornaghi, L. et al., Tet.Lett. 2005, **46**, 3485



précipitée dans un mélange eau glacée/hexane. Le précipité est filtré sur fritté, trituré successivement à l'eau glacée puis à l'hexane, et séché. Après recristallisation dans de l'éthanol absolu, le composé **1**<sup>107</sup> (4.284 g, 0.01 mol) est obtenu avec un rendement de 25%.  $R_f$  0.35 (acétate d'éthyle/méthanol : 9-1);  $[\alpha]_D = +96$  ( $c = 1.0$  dans  $\text{CHCl}_3$ ) ; Point de fusion : 133-135°C (éthanol absolu); **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)** :  $\delta = 7.53$ -7.48 et 7.42-7.35 (m, 5H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 6.00-5.87 (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 5.55 (s, 1H,  $\text{PhCH}$ ), 5.37-5.24 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 4.97 (d, 1H,  $J_{1,2} = 3.9$  Hz,  $H$ -1), 4.30 (dd, 1H,  $J_{5,6a} = 4.7$  et  $J_{6a,6b} = 9.9$  Hz,  $\text{H}_{6a}$ ), 4.29-4.22 et 4.10-4.03 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 3.96 (td, 1H,  $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.3$  et  $J_{3,\text{OH}} = 1.0$  Hz,  $H$ -3), 3.91-3.83 (m, 1H,  $H$ -5), 3.74 (tl, 1H,  $J_{5,6b} = 10.4$  Hz,  $H$ -6b), 3.64 (tld, 1H,  $J_{2,\text{OH}} = 10.2$  Hz,  $H$ -2), 3.52 (t, 1H,  $J_{4,5} = 9.3$  Hz,  $H$ -4), 2.50 (sl, 2H,  $\text{OH}$ -2 et  $\text{OH}$ -3); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)** :  $\delta = 137.0$ -126.3 ( $\text{C}_{\text{arom.}}$ ), 133.2 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 118.3 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 101.9 ( $\text{PhCH}$ ), 97.8 (C-1), 80.9, 72.8, 71.8, 68.8, 68.8, 62.6 (C-2, C-3, C-4, C-5, C-6 et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ). **ESI $^+$ -HRMS**:  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_6$   $[\text{M} + \text{H}]^+$  : 309.1333 ; trouvée : 309.13291

**2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidène- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle (2).**



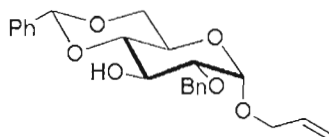
A une solution de composé **1** (308 mg, 1.0 mmol, 1 équiv.) dans du toluène distillé (40 mL), est additionné du diméthoxyde de dibutylétain (250  $\mu\text{L}$ , 1.1 mmol, 1.1 équiv.). Le milieu réactionnel est concentré de moitié pendant 4 h à reflux, en utilisant un montage de type Dean-stark.

Le mélange est alors refroidi à 0°C, puis de la triéthylamine (7  $\mu\text{L}$ , 5% mol.) et du chlorure de benzoyle (120  $\mu\text{L}$ , 1.05 mmol, 1.05 équiv.) sont ajoutés. Après 3 h à température

<sup>107</sup> Wessel, H. P. *J. Carbohydr. Chem.* **1988**, 7, 263-269.

ambiante, le milieu est dilué avec de l'acétate d'éthyle, lavé successivement avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium, à l'eau et avec une solution saturée en chlorure de sodium, séché sur sulfate de sodium anhydre et concentré. Après purification par chromatographie rapide sur gel de silice (toluène/acétate d'éthyle: 97-3), le composé **2** (343 mg, 0.83 mmol) est obtenu avec 83% de rendement.  $R_f$  0.78 (hexane/acétate d'éthyle : 1-1);  $[\alpha]_D = +107$  ( $c = 1.0$  dans  $\text{CHCl}_3$ ) ; **RMN  $^1\text{H}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , **300 MHz**) :  $\delta = 8.10$ -8.06 et 7.59-7.35 (m, 10H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 5.86-5.74 (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 5.53 (s, 1H,  $\text{PhCH}$ ), 5.30-5.22 (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 5.19 (d, 1H,  $J_{1,2} = 3.8$  Hz,  $H-1$ ), 5.15-5.10 (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 5.04 (dd, 1H,  $J_{2,3} = 9.6$  Hz,  $H-2$ ), 4.40 (td, 1H,  $J_{3,4} = 9.6$  et  $J_{3,\text{OH}} = 2.1$  Hz,  $H-3$ ), 4.31 (dd, 1H,  $J_{5,6a} = 4.7$  et  $J_{6a,6b} = 10.2$  Hz,  $H-6a$ ), 4.21-4.15 (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 4.01-3.90 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$  et  $H-5$ ), 3.77 (t, 1H,  $J_{5,6b} = 10.2$  Hz,  $H-6b$ ), 3.66 (t, 1H,  $J_{4,5} = 9.6$  Hz,  $H-4$ ), 2.55 (d, 1H,  $\text{OH}-3$ ) ; **RMN  $^{13}\text{C}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , **75 MHz**) :  $\delta = 166.1$  ( $\text{OCOPh}$ ), 136.9-126.2 ( $\text{C}_{\text{arom.}}$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 117.5 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 101.8 ( $\text{PhCH}$ ), 95.8 ( $\text{C}-1$ ), 81.3, 73.8, 68.7, 68.6, 68.6 et 62.2 ( $\text{C}-2$ ,  $\text{C}-3$ ,  $\text{C}-4$ ,  $\text{C}-5$ ,  $\text{C}-6$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ). **ESI $^+$ -HRMS**:  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_7$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  : 435.1414 ; trouvée : 435.14123.

### 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidène- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle (**3**).

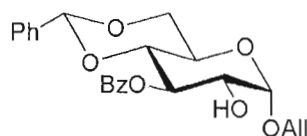


A une solution de composé **1** (154 mg, 0.5 mmol, 1 équiv.) dans du toluène distillé (20 mL), est additionné du diméthoxyde de dibutylétain (126  $\mu\text{L}$ , 0.55 mmol, 1.1 équiv.). Le milieu réactionnel est concentré de moitié pendant 6 h à reflux, en utilisant un montage de type Dean-stark.

Le mélange est ensuite refroidi à 0°C, puis du bromure de benzyle (64  $\mu\text{L}$ , 0.525 mmol, 1.05 équiv.) et de l'iodure de tetrabutylammonium (283 mg, 0.75 mmol, 1.5 équiv.) sont ajoutés. Après 15 h à reflux, le milieu est dilué avec de l'acétate d'éthyle, lavé

successivement avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium, à l'eau et avec une solution saturée en chlorure de sodium, séché sur sulfate de sodium anhydre et concentré. Après purification par chromatographie rapide sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle: 4-1), le composé **3** (22 mg, 0.06 mmol) est obtenu avec 11% de rendement.  $R_f$  0.56 (hexane/acétate d'éthyle : 3-2);  $[\alpha]_D = +56$  ( $c = 1.0$  dans  $\text{CHCl}_3$ ) ; **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)** :  $\delta = 7.53\text{-}7.50$  et  $7.41\text{-}7.32$  (m, 10H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ),  $6.01\text{-}5.88$  (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $5.54$  (s, 1H,  $\text{PhCH}$ ),  $5.39\text{-}5.24$  (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $4.83$  (d, 1H,  $J_{1,2} = 3.8$  Hz,  $\text{H-1}$ ),  $4.77$  et  $4.69$  (2d, 2H,  $J_{\text{H,H}} = 12.1$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ),  $4.26$  (dd, 1H,  $J_{5,6a} = 4.7$  et  $J_{6a,6b} = 10.2$  Hz,  $\text{H-6a}$ ),  $4.23\text{-}4.16$  (m, 2H,  $\text{H-3}$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $4.02\text{-}3.95$  (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $3.89$  (td, 1H,  $J_{4,5} = J_{5,6b} = 9.6$  Hz,  $\text{H-5}$ ),  $3.73$  (t, 1H,  $\text{H-6b}$ ),  $3.55\text{-}3.47$  (m, 2H,  $\text{H-4}$  et  $\text{H-2}$ ),  $2.59$  (d, 1H,  $J_{3,\text{OH}} = 2.2$  Hz,  $\text{OH-3}$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)** :  $\delta = 137.8\text{-}126.3$  ( $\text{C}_{\text{arom.}}$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $118.2$  ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $101.9$  ( $\text{PhCH}$ ),  $96.2$  (C-1),  $81.2$ ,  $79.6$ ,  $73.1$ ,  $70.1$ ,  $68.9$ ,  $68.6$  et  $62.2$  (C-2, C-3, C-4, C-5, C-6,  $\text{CH}_2\text{Ph}$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ). **ESI $^+$ -HRMS**:  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_6$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$  : 421.1622 ; trouvée : 421.1635.

### 3-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle (**4**)



**1<sup>ère</sup> méthode** : Du 4,6-*O*-benzylidene- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle **1** (50 mg, 0.16 mmol) est dissout dans du dichlorométhane (2 mL). De l'oxyde d'argent (56 mg, 0.24 mmol, 1.5 équiv.) est ajouté à température de la pièce et le mélange agité à cette température pendant 30 minutes. Du chlorure de benzoyle (21  $\mu\text{L}$ , 0.18 mmol, 1.1 mmol) et de l'iodure de potassium (5.0 mg, 0.03 mmol, 0.2 équiv.) sont alors ajoutés sous azote et la réaction poursuivie à température ambiante pendant huit heures. Le mélange est filtré sur célite et lavé avec du dichlorométhane puis concentré. Après une purification sur gel de silice flash (éther de pétrole/acétate d'éthyle : 5-1), le produit désiré est obtenu avec 15% de rendement.

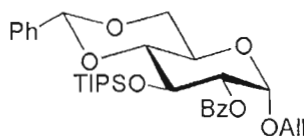
2<sup>ème</sup> méthode : Du 4,6-*O*-benzylidène- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle (100 mg, 0.32 mmol) est dissous dans un mélange dichlorométhane sec/pyridine (5-1 : 1.54 mL) sous azote puis est ajoutée goutte à goutte une solution de chlorure de benzoyle (39  $\mu$ L, 0.33 mmol, 1.02 équiv.) dans du dichlorométhane sec (325  $\mu$ L) à 0°C. La réaction est poursuivie pendant deux heures à température de la pièce puis arrêtée par dilution dans du dichlorométhane (5mL). Le mélange est ensuite lavé à l'eau, puis dans une solution d'acide chlorhydrique 1M, séché sur sulfate de sodium anhydre et concentré. Une purification sur gel de silice flash permet d'obtenir le composé **4** avec 10% de rendement.  $R_f$  = 0.17, toluène/AcOEt 9 : 1 ;  $[\alpha]_D^{24}$  +107 ( $c$ =1.0, CHCl<sub>3</sub>) (Litt.<sup>108</sup> +55  $c$ =0.85 à 20 °C) ; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25 °C):  $\delta$  = 8.12-8.10 (m, 2H,  $H_{\text{arom}}$ ), 7.63-7.29 (m, 8H,  $H_{\text{arom}}$ ), 5.90-5.78 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 5.59 (s, 1H, PhCH), 5.33-5.26 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 5.23 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 3.8 Hz,  $H$ -1), 5.15-5.10 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 5.04 (dd, 1H,  $J_{3,4}$  = 9.6,  $H$ -3), 4.42 (dd, 1H,  $J_{5,6a}$  = 4.7 et  $J_{6a,6b}$  = 10.2 Hz,  $H$ -6a), 4.33 (td, 1H,  $J_{2,3}$  = 9.6 Hz et  $J_{2,\text{OH}}$  = 2.1 Hz,  $H$ -2), , 4.25-4.19 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 4.04-3.95 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub> et  $H$ -5), 3.76 (t, 1H,  $J_{5,6b}$  = 10.2 Hz,  $H$ -6b), 3.64 (t, 1H,  $J_{4,5}$  = 9.6 Hz,  $H$ -4), 2.63 ppm (d, 1H,  $J_{H-2,\text{OH}}$  = 3.0 Hz, OH-2) ; RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz):  $\delta$  = 166.2 (COPh), 137.0 ( $C_{q\text{-arom}}$ ), 133.3 (-CH=CH<sub>2</sub>), 129.9-126.3 ( $C_{\text{arom}}$ ), 117.6 (-CH=CH<sub>2</sub>), 102.0 (PhCH), 95.9 ( $C$ -1), 81.4 ( $C$ -5), 73.9 ( $C$ -3), 68.8 ( $C$ -4), 68.8 ( $C$ -2), 68.7 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 62.3 ppm ( $C$ -6). ESI<sup>+</sup>-HRMS:  $m/z$  calculée pour C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>O<sub>7</sub> [M + Na]<sup>+</sup> : 435.1414 ; trouvée : 435.15984.

---

<sup>108</sup> Mehta, S.; Jordan, K. L.; Weimar, T. Kreis, U. C.; Batchelor, R. J.; Einstein, F. W. B., Pinto, B. M., *Tetrahedron-Asymm.*, **1994**, 5, 2367-2396.

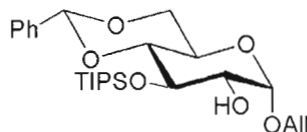
2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-triisopropylsilyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle

(5)



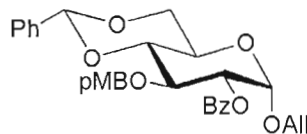
Du 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle (800 mg, 1.94 mmol) est solubilisé dans du dichlorométhane (20mL) à 0°C. De la 2,6-lutidine (0.361 mL, 3.1 mmol, 1.6 équiv.) et du triisopropylsilyltrifluorométhanesulfonate (0.645 mL, 2.33 mmol, 1.2 équiv.) sont ajoutés sous azote. La réaction est poursuivie pendant une heure à 0°C puis une journée à température de la pièce. Le mélange réactionnel est alors lavé à l'eau glacée, extrait au dichlorométhane, lavé dans des solutions saturées d'hydrogénocarbonate de sodium, de chlorure de sodium puis séché sur sulfate de sodium anhydre et concentré. Une purification sur gel de silice flash (toluène) permet d'obtenir le produit désiré (970 mg, 1.71 mmol) dans un rendement de 88%.  $R_f = 0.64$ , toluène/AcOEt 95 : 5 ;  $[\alpha]_D^{24} +80$  ( $c=1.0$ , CHCl<sub>3</sub>) ; **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25 °C)**:  $\delta$  = 8.11-8.01 (m, 2H,  $H_{\text{arom}}$ ), 7.62-7.36 (m, 8H,  $H_{\text{arom}}$ ), 5.89-5.76 (m, 1H, CH=CH<sub>2</sub>), 5.54 (s, 1H, PhCH), 5.32-5.25 (m, 1H, CHCH<sub>2</sub>), 5.16-5.10 (m, 3H, CH=CH<sub>2</sub>,  $H-1$  et  $H-2$ ), 4.54 (t, 1H,  $J_{2,3} = J_{3,4} = 8.9$  Hz,  $H-3$ ), 4.31 (dd, 1H,  $J_{6a,6b} = 4.8$  Hz,  $J_{5,6} = 10.1$  Hz,  $H-6a$ ), 4.25-4.18 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>), 4.03-3.95 (m, 2H, OCH<sub>2</sub> et  $H-5$ ), 3.80 (t, 1H,  $H-6b$ ), 3.61 (t, 1H,  $H-4$ ), 0.94-0.89 ppm (m, 21H,  $H_{\text{TIPS}}$ ) ; **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**:  $\delta$  = 166.1 (COPh), 137.2-126.3 ( $C_{\text{arom}}$  et CH=CH<sub>2</sub>), 117.2 (CH=CH<sub>2</sub>), 102.2 (PhCH), 96.1 ( $C-1$ ), 82.6 ( $C-5$ ), 74.8 ( $C-3$ ), 69.9 ( $C-4$ ), 69.0 ( $C-2$ ), 68.5 (OCH<sub>2</sub>), 62.6 ( $C-6$ ), 18.0, 17.9, 17.7 (CH<sub>3</sub>-TIPS), 12.5, 12.3 ppm (CH-TIPS). **ESI<sup>+</sup>-HRMS** :  $m/z$  calculée pour C<sub>32</sub>H<sub>44</sub>O<sub>7</sub>SiNa [M + Na]<sup>+</sup> : 591.2748 ; trouvée : 591.2747.

#### 4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-triisopropylsilyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle (6)



Du 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidène-3-*O*-triisopropylsilyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle (400 mg, 0.70 mmol) est soumis à une réaction de Zemplén classique (Méthanol : 7mL, méthanoate de sodium 1M : 352  $\mu$ L, 0.35 mmol, 0.5 équiv.). Une purification sur gel de silice flash (toluène/acétate d'éthyle : 7-1) permet d'obtenir le produit désiré (150 mg, 0.33 mmol) avec 47% de rendement. **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 7.49-7.27 (m, 5H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 6.01-5.88 (m, 1H,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.48 (s, 1H, PhCH), 5.37-5.23 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 4.96 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 3.8 Hz,  $\text{H}-1$ ), 4.29-4.22 (m, 2H,  $\text{H}-4$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 4.11-4.05 (m, 2H,  $\text{H}-3$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 3.90-3.82 (m, 1H,  $\text{H}-5$ ), 3.73 (t, 1H,  $J_{5,6b}$  =  $J_{6a,6b}$  = 10.2 Hz,  $\text{H}-6a$ ), 3.61 (tdd, 1H,  $J_{2,3}$  = 3.8 Hz et  $J_{2,\text{OH}2}$  = 8.8 Hz,  $\text{H}-2$ ), 3.44 (t, 1H,  $J_{5,6b}$  = 10.2 Hz,  $\text{H}-6b$ ), 2.15 (d, 1H, OH-2), 1.16-1.02 (m, 21H,  $\text{H}_{\text{TIPS}}$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 137.3 ( $\text{C}_{\text{qarom}}$ ), 133.5-126.2 ( $\text{C}_{\text{arom}}$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 118.0 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 101.9 (PhCH), 98.1 ( $\text{C}-1$ ), 82.0 ( $\text{C}-5$ ), 74.0, 73.3, 69.0 ( $\text{C}-2$ ,  $\text{C}-3$ ,  $\text{C}-4$ ), 68.6 ( $\text{OCH}_2$ ), 62.8 ( $\text{C}-6$ ), 18.1 ( $\text{CH}_3\text{-TIPS}$ ), 12.6 ( $\text{CH-TIPS}$ ). **ESI $^+$ -HRMS :**  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{O}_6\text{SiNa}$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$  : 487.2486 ; trouvée : 487.2471.

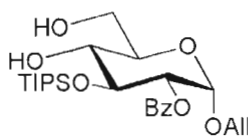
#### 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidène-3-*O*-*p*-methoxybenzyle- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle (7)



Du 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidène- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle **2** (2.35 g, 5.59 mmol, 1 équiv.) dissous dans du DMF (30 mL) à 0°C est ajouté à une suspension à 0°C de NaH (60%, 250 mg, 6.26 mmol, 1.1 équiv.) dans le DMF (30 mL) sous azote. Après une agitation pendant une dizaine de minute à cette température, du chlorure de *p*-

methoxybenzyle (98%, 867  $\mu\text{L}$ , 6.26 mmol, 1.1 équiv.) est ajouté goutte à goutte. La réaction est poursuivie pendant quatre heures jusqu'à un état d'équilibre puis le mélange dilué dans l'eau glacée. Le DMF et l'excès de NaH sont éliminés par un lavage dans un mélange eau/hexane/acétate d'éthyle (1 : 1 : 2), extrait à l'acétate d'éthyle puis séché sur sulfate de sodium anhydre et concentré. Une purification sur gel de silice flash (hexane/toluène/acétate d'éthyle : 4-5-1) pour donner le composé **7** (783 mg, 1.47 mmol) avec 31% de rendement. **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 8.05-7.27 (m, 10H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7.16-7.13 et 6.76-6.73 (m, 2x2H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 6.01-5.92 (m,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 5.84 (t, 1H,  $J_{3,4} = J_{2,3} = 9.6$  Hz,  $\text{H}-3$ ), 5.47 (s, 1H,  $\text{H}-7$ ), 5.37-5.29 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 4.90 (d, 1H,  $J_{1,2} = 3.6$  Hz,  $\text{H}-1$ ), 4.54 (s, 2H,  $\text{OCH}_2\text{PhOCH}_3$ ), 4.32-4.22 (m, 2H,  $\text{H}-5$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 4.10-3.99 (m, 2H,  $\text{H}-6\text{a}$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 3.77 (s, 3H,  $\text{OCH}_2\text{PhOCH}_3$ ), 3.74-3.67 (m, 3H,  $\text{H}-2$ ,  $\text{H}-4$  et  $\text{H}-6\text{b}$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 137.0 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 133.8, 133.5, 132.8, 130.2, 129.8, 129.5, 128.9, 128.5, 128.2, 128.1, 126.1, 118.2 ( $\text{C}_{\text{arom.}}$ ), 113.7 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 101.4 ( $\text{CHPh}$ ), 96.5 ( $\text{C}-1$ ), 79.7, 76.6, 72.3, 71.1, 69.0, 68.7, 62.6 ( $\text{C}-2, \text{C}-3, \text{C}-4$ ,  $\text{C}-5$ ,  $\text{C}-6$ ,  $\text{OCH}_2\text{PhOCH}_3$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 55.2 ( $\text{OCH}_2\text{PhOCH}_3$ ), **ESI $^+$ -HRMS :**  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{31}\text{H}_{32}\text{O}_8\text{Na}$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$  : 555.1989 ; trouvée : 555.18.

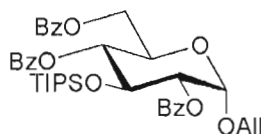
### 2-O-benzoyl-3-O-triisopropylsilyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle (**8**)



Du 2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidene-3-O-triisopropylsilyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle **6** (390 mg, 0.69 mmol) solubilisé dans un mélange méthanol/1,4-dioxane (1 : 1 - 10 mL) est porté à reflux pendant deux heures en présence de *p*-toluènesulfonique monohydrate (130 mg, 0.07 mmol, 0.1 équiv.). Le mélange est ensuite neutralisé par ajout de triéthylamine (0.1 mL) puis concentré. Une purification sur gel de silice flash (hexane/acétate d'éthyle : 3-2) permet l'obtention du diol **8** (293 mg, 0.61 mmol) avec un rendement de 89%. **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  = 8.08-8.04 et 7.62-7.27 (m, 5H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 5.86-5.73 (m, 1H,

OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 5.30-5.22 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 5.12-5.08 (m, 2H, *H*-1 et OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 4.96 (dd, 1H,  $J_{1,2} = 3.6$  Hz et  $J_{2,3} = 9.6$  Hz, *H*-2), 4.38 (t, 1H,  $J_{3,4} = 8.2$  Hz, *H*-3), 4.22-4.15 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 3.99-3.92 (m, 2H, *H*-6a et OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 3.89-3.86 (m, 1H, *H*-5), 3.82-3.77 (m, 1H, *H*-6b), 3.72-3.65 (ddd, 1H,  $J_{4,OH} = 3.6$  Hz et  $J_{4,5} = 8.2$  Hz, *H*-4), 3.61 (d, 1H, OH-4), 2.22 (t, 1H, OH-6), 1.10-0.99 (m, 21H, *H*-TIPS); **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**:  $\delta = 166.2$  (COPh), 133.6, 133.2, 130.0, 129.6, 128.3 (C<sub>arom.</sub> et OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 117.0 (OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 95.4 (C-1), 74.2, 73.0, 72.2, 70.9 et 68.2 (C-2, C-3, C-4, C-5, C-6), 62.3 (OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 18.0, 17.9 (CH<sub>3</sub>-TIPS), 12.8 (CH-TIPS). **ESI<sup>+</sup>-HRMS**:  $m/z$  calculée pour C<sub>25</sub>H<sub>40</sub>O<sub>7</sub>SiNa [M + Na]<sup>+</sup>: 503.2436 ; trouvée : 503.26.

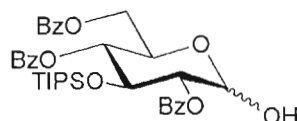
#### 2, 4, 6-tri-O-benzoyl-3-O-triisopropylsilyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle (10)



Le diol **8** (200 mg, 0.42 mmol) est soumis à une benzylation classique (pyridine : 5 mL, chlorure de benzoyle : 465  $\mu$ L, 0.99 mmol, 2.4 équiv.) pour fournir quantitativement le produit désiré suite à une purification sur gel de silice flash (hexane/acétate d'éthyle : 3-1), **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**:  $\delta = 8.07$ -7.98, 7.57-7.32 (m, 15H, H<sub>arom.</sub>), 5.84-5.71 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 5.24-5.18 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 5.10 (d, 1H,  $J_{1,2} = 3.6$  Hz, *H*-1), 5.09-4.97 (m, 2H,  $J_{2,3} = 9.6$  Hz, *H*-2 et OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 4.77-4.67 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 4.54-4.48 (dd, 1H,  $J_{6a,6b} = 2.2$  Hz et  $J_{6a,5} = 7.7$  Hz, *H*-6a), 4.38 (t, 1H,  $J_{3,4} = 9.6$  Hz, *H*-3), 4.19-4.14 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 4.03-3.92 (m, 2H, *H*-5 et *H*-6b), 3.54 (dd, 1H, *H*-4) ; **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**:  $\delta = 167.1$ , 166.2, 166.1 (COPh), 133.5-128.2 (C<sub>arom.</sub> et OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 116.9 (OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 95.5 (C-1), 74.1, 72.8, 71.7, 69.8, 68.3 (C-2, C-3, C-4, C-5, C-6), 63.5 (OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 18.0 (CH<sub>3</sub>TIPS), 12.7 (CH<sub>3</sub>TIPS); **ESI<sup>+</sup>-HRMS**:  $m/z$  calculée pour C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>O<sub>7</sub> [M + Na]<sup>+</sup>: 711.2960 ; trouvée : 711.13.

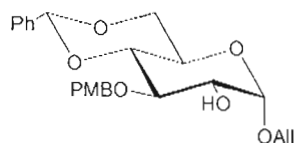


**2,4,6-tri-O-benzoyl-3-O-triisopropylsilyl- $\alpha$ -D-glucopyranose (11)**



Le composé **10** (286 mg, 0.42 mmol) est dissout dans du tétrahydrofuran sec (THF : 4 mL) puis du chlorure de zinc (170 mg, 1.26 mmol, 3 équiv.) préalablement séché à la flamme est ajouté. Après quinze minutes, du tetrakis(triphénylphosphine) de palladium (48 mg, 0.04 mmol, 0.1 équiv.) est ajouté et le mélange agité pour quinze minutes. Finalement, de l'hydruure de tributylétain (450  $\mu$ L, 1.66 mmol, 4 équiv.) est ajouté. Après une heure d'agitation à température ambiante, le milieu est additionné d'une solution d'acétate d'éthyle/eau/acide chlorhydrique (12.5 : 5.5 : 2 – 40 mL). Après cinq minutes, la phase organique est extraite à l'acétate d'éthyle, lavée à l'eau, séchée sur sulfate de sodium anhydre puis concentrée. Une purification sur gel de silice flash (hexane/acetate d'éthyle) permet l'obtention du produit désiré avec 68 % de rendement.  $R_f$  = 0.68, Hexane/acetate d'éthyle 3 : 2. RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) :  $\delta$  = 5.43 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 3.3 Hz,  $H-1^\alpha$ ), 4.74 (d, 0.4H,  $J_{1,2}$  = 8.4 Hz,  $H-1^\beta$ ), 4.27 (sl, 1H, OH-1); RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) :  $\delta$  = 170.8-169.6 (OCOCH<sub>3</sub>), 95.5 (C-1 $^\beta$ ), 90.1 (C-1 $^\alpha$ ), 73.2, 72.2, 72.0, 71.0, 69.8, 68.4, 68.4 et 67.1 (C-2 $^\alpha$  et  $^\beta$ , C-3 $^\alpha$  et  $^\beta$ , C-4 $^\alpha$  et  $^\beta$  et C-5 $^\alpha$  et  $^\beta$ ) 61.9 (C-6 $^\alpha$  et  $^\beta$ ) et 20.7, 20.7, 20.6, 20.6 (OCOCH<sub>3</sub>).

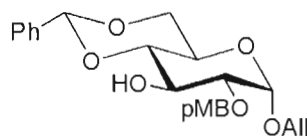
**4,6-O-benzylidène-3-O-*p*-methoxybenzyle- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle (12)**



Le composé **7** (783 mg, 1.47 mmol) est dissout dans du méthanol (7 mL), puis une solution aqueuse de soude est ajoutée à 0°C. Après 72 heures de réaction à TP, sous azote, le mélange est dilué dans du méthanol, le pH est neutralisé par ajout de résine échangeuse d'ions. La solution est filtrée sur coton puis concentrée. Une purification sur gel de silice

flash (toluène/méthanol : 95-5) permet l'obtention de l'accepteur **12** (111 mg, 0.26 mmol) avec 42% de rendement.  $R_f = 0.27$ , Hexane/toluène/AcOEt 2 : 2 : 1. **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)**:  $\delta = 8.11\text{-}8.08$ ,  $7.57\text{-}7.28$  et  $6.9\text{-}6.89$  (m, 9H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ),  $6.00\text{-}5.87$  (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $5.54$  (s, 1H,  $H\text{-}7$ ),  $5.34\text{-}5.32$  (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $5.27\text{-}5.23$  (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $4.80$  (d, 1H,  $J_{1,2} = 3.6$  Hz,  $H\text{-}1$ ),  $4.67$  (dd, 2H,  $\text{CH}_2\text{PhOCH}_3$ ),  $4.29\text{-}4.16$  (m, 3H,  $H\text{-}2$ ,  $H\text{-}4$ ,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $4.02\text{-}3.95$  (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $3.82$  (s, 3H,  $\text{CH}_2\text{PhOCH}_3$ ),  $3.71$  (t, 1H,  $J_{5,6a} = J_{6a,6b} = 10.2$  Hz,  $H\text{-}6a$ ),  $3.56\text{-}3.45$  (m, 2H,  $J_{2,3} = 9.3$  Hz,  $H\text{-}6b$  et  $H\text{-}3$ ),  $2.38$  (sl, 1H,  $\text{OH}_2$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)**:  $\delta = 137.0$  ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $133.7$ ,  $130.4$ ,  $129.9$ ,  $129.4$ ,  $128.5$ ,  $126.5$ ,  $118.7$ ,  $118.4$  ( $\text{C}_{\text{arom.}}$ ),  $114.2$  ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $102.2$  ( $\text{CHPh}$ ),  $96.3$  ( $\text{C}\text{-}1$ ),  $81.4$ ,  $79.2$ ,  $72.9$ ,  $70.2$ ,  $69.2$ ,  $68.8$ ,  $62.2$  ( $\text{C}\text{-}2$ ,  $\text{C}\text{-}3$ ,  $\text{C}\text{-}4$ ,  $\text{C}\text{-}5$ ,  $\text{C}\text{-}6$ ,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$  et  $\text{CH}_2\text{PhOCH}_3$ ),  $55.5$  ( $\text{CH}_2\text{PhOCH}_3$ ). **ESI $^+$ -HRMS**:  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_7$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  :  $451.1727$  ; trouvée :  $451.1725$ .

#### 4,6-*O*-benzylidène-2-*O*-*p*-methoxybenzyle- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle (**13**)

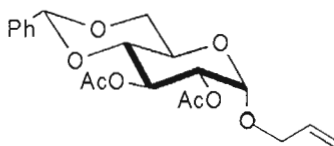


A une solution de composé **1** (2.3 g, 7.45 mmol, 1 équiv.) dans du toluène distillé (280 mL), est additionné du diméthoxyde de dibutylétain (1.88 mL, 0.55 mmol, 1.1 équiv.). Le milieu réactionnel est concentré de moitié pendant 6 h à reflux, en utilisant un montage de type Dean-stark.

Le mélange est ensuite refroidi à  $0^\circ\text{C}$ , puis du chlorure de *p*-methoxybenzyle (1.178 mL, 7.833 mmol, 1.05 équiv.) et de l'iodure de tetrabutylammonium (2.755 g, 7.31 mmol, 0.98 équiv.) sont ajoutés. Après 15 h à reflux, le milieu est dilué avec de l'acétate d'éthyle, lavé successivement avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium, à l'eau et avec une solution saturée en chlorure de sodium, séché sur sulfate de sodium anhydre et concentré. Après purification par chromatographie rapide sur gel de silice

(cyclohexane/acétate d'éthyle: 4-1), le composé **13** (222 mg, 0.52 mmol) est obtenu avec 7% de rendement.  $R_f = 0.27$ , hexane/toluène/AcOEt 2 : 2 : 1;  $[\alpha]_D = +52$  ( $c = 1.0$  dans  $\text{CHCl}_3$ )  
**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)** :  $\delta = 7.52\text{-}7.27$  et  $6.92\text{-}6.88$  (m, 9H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ),  $5.95\text{-}5.89$  (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $5.53$  (s, 1H,  $H\text{-}7$ ),  $5.39\text{-}5.32$  (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $5.27\text{-}5.23$  (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $4.79$  (d, 1H,  $J_{1,2} = 3.6$  Hz,  $H\text{-}1$ ),  $4.65$  (dd, 2H,  $\text{CH}_2\text{PhOCH}_3$ ),  $4.28\text{-}4.15$  (m, 3H,  $H\text{-}3$ ,  $H\text{-}4$ ,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $4.01\text{-}3.95$  (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $3.82$  (s, 3H,  $\text{CH}_2\text{PhOCH}_3$ ),  $3.71$  (t, 1H,  $J_{5,6a} = J_{6a,6b} = 10.2$  Hz,  $H\text{-}6a$ ),  $3.55\text{-}3.44$  (m, 2H,  $J_{2,3} = 9.3$  Hz,  $H\text{-}6b$  et  $H\text{-}2$ ),  $2.61$  (sl, 1H,  $\text{OH}_3$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)** :  $\delta = 159.5$  ( $\text{C}_{\text{qarom}}$ ),  $137.0$  ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $133.5$ ,  $129.9$ ,  $129.7$ ,  $129.6$ ,  $128.2$ ,  $126.3$ ,  $118.1$  ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ),  $113.9$  ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $101.9$  ( $\text{CHPh}$ ),  $96.3$  ( $\text{C}\text{-}1$ ),  $81.2$ ,  $79.2$ ,  $72.7$ ,  $70.0$ ,  $68.9$ ,  $68.5$ ,  $62.2$  ( $\text{C}\text{-}2$ ,  $\text{C}\text{-}3$ ,  $\text{C}\text{-}4$ ,  $\text{C}\text{-}5$ ,  $\text{C}\text{-}6$ ,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$  et  $\text{CH}_2\text{PhOCH}_3$ ),  $55.2$  ( $\text{CH}_2\text{PhOCH}_3$ ). **ESI $^+$ -HRMS**:  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_7$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  :  $451.1727$  ; trouvée :  $451.1725$ .

#### 2,3-di-*O*-acétyl-4,6-*O*-benzylidène- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle (**14**)

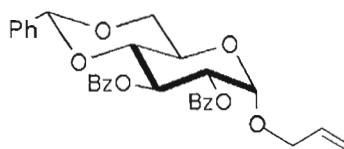


Le composé **1** (804 mg, 2.60 mmol, 1 équiv.) est dissous dans de la pyridine distillée (15 mL). De l'anhydride acétique (15 mL) est ajouté à  $0^\circ\text{C}$ . Après 12 h à température ambiante, le mélange réactionnel est neutralisé par addition de méthanol glacé. La phase organique est lavée successivement avec des solutions saturées d'hydrogénosulfate de potassium, d'hydrogénocarbonate de sodium et de chlorure de sodium, séchée sur sulfate de sodium anhydre puis concentrée. Le composé **14** (700 mg, 1.78 mmol) est obtenu avec un rendement de 68%.  $R_f = 0.48$  (hexane/acétate d'éthyle : 2-1);  $[\alpha]_D = +87$  ( $c = 1.0$  dans  $\text{CHCl}_3$ )  
**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)** :  $\delta = 7.47\text{-}7.44$  et  $7.40\text{-}7.34$  (m, 5H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ),  $5.95\text{-}5.82$  (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $5.63$  (t, 1H,  $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.8$  Hz,  $H\text{-}3$ ),  $5.52$  (s, 1H,  $\text{PhCH}$ ),  $5.36\text{-}5.21$  (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $5.10$  (d, 1H,  $J_{1,2} = 3.9$  Hz,  $H\text{-}1$ ),  $4.91$  (dd, 1H,  $H\text{-}2$ ),  $4.30$  (m, 1H,  $J_{6a,6b} = 10.1$  et  $J_{5,6a} = 4.9$  Hz,  $H\text{-}6a$ ),  $4.25\text{-}4.18$  (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $4.06\text{-}3.96$  (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$  et

*H*-5), 3.77 (t, 1H,  $J_{5,6b} = 10.1$  Hz, *H*-6b), 3.66 (t, 1H,  $J_{4,5} = 9.6$  Hz, *H*-4), 2.10 et 2.07 (2s, 2x3H, OCOCH<sub>3</sub>); **RMN** <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) :  $\delta = 170.4$  et 169.7 (OCOCH<sub>3</sub>), 136.9-126.1 (C<sub>arom.</sub>), 133.2 (OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 118.0 (OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 101.5 (PhCH), 95.6 (C-1), 79.2, 71.5, 68.9, 68.7, 68.6 et 62.5 (C-2, C-3, C-4, C-5, C-6 et OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 20.8 et 20.7 (OCOCH<sub>3</sub>).

**ESI<sup>+</sup>-HRMS**:  $m/z$  calculée pour C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>8</sub> [M + Na]<sup>+</sup> : 415.1363 ; trouvée : 415.135.

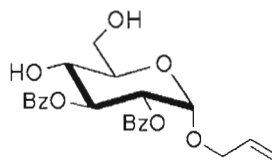
**2,3-di-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidène- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle (15).**



Le composé **15** est obtenu selon la même procédure décrite pour l'obtention du composé **14** en utilisant le chlorure de benzoyle (0.28 mL, 2.4 mmol, 2.4 équiv.). Après recristallisation dans un mélange hexane/acétate d'éthyle, le produit **15**<sup>109</sup> (436 mg, 0.84 mmol) est obtenu avec 84% de rendement.  $R_f$  0.49 (hexane/acétate d'éthyle : 2-1);  $[\alpha]_D = +84$  ( $c = 1.0$  dans CHCl<sub>3</sub>) ; Point de fusion : 164-166°C (hexane/acétate d'éthyle, 9-1); **RMN** <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) :  $\delta = 8.03$ -7.99 et 7.56-7.31 (m, 15H, H<sub>arom.</sub>), 6.12 (t, 1H,  $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.6$  Hz, *H*-3), 5.92-5.79 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 5.59 (s, 1H, PhCH), 5.35-5.30 (m, 3H, *H*-1, *H*-2 et OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 5.20-5.15 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 4.38 (dd, 1H,  $J_{6a,6b} = 10.3$  et  $J_{5,6a} = 4.9$  Hz, *H*-6a), 4.31-4.24 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 4.17 (td, 1H,  $J_{4,5} = J_{5,6b} = 10.2$  Hz, *H*-5), 4.09-4.03 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 3.93 (tl, 1H, *H*-4), 3.91 (t, 1H, *H*-6b); **RMN** <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) :  $\delta = 166.0$  et 165.6 (OCOPh), 136.9-126.1 (C<sub>arom.</sub> et OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 117.8 (OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 101.6 (PhCH), 96.0 (C-1), 79.5, 72.4, 69.6, 68.9, 68.8 et 62.8 (C-2, C-3, C-4, C-5, C-6 et OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>). **ESI<sup>+</sup>-HRMS**:  $m/z$  calculée pour C<sub>30</sub>H<sub>28</sub>O<sub>8</sub> [M + Na]<sup>+</sup> : 539.1676 ; trouvée : 539.1672.

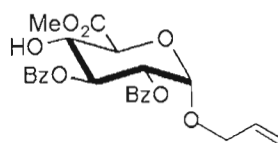
<sup>109</sup> Mehta, S.; Jordan, K. L.; Weimar, T.; Kreis, U. C.; Batchelor, R. J.; Einstein, F. W. B.; Pinto, B. M. *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, 5, 2367-2396.

**2,3-di-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle (17).**



A une solution de composé **15** (258 mg, 0.50 mmol, 1 équiv.) dans un mélange méthanol/1,4-dioxane (1-1, 5 mL) est ajouté de l'acide *p*-toluènesulfonique monohydraté (10 mg, 0.05 mmol, 0.1 équiv.). Après 2 h à 85°C, le mélange est neutralisé par ajout de triéthylamine (0.05 mL) puis concentré. Une purification par chromatographie rapide sur gel de silice (acétate d'éthyle/éther de pétrole : 1-1) permet d'obtenir le diol **17** (210 mg, 0.49 mmol) avec un rendement de 98%.  $R_f$  0.40 (dichlorométhane/méthanol : 95-5);  $[\alpha]_D = +149$  ( $c = 1.0$  dans  $\text{CHCl}_3$ ) ; **RMN  $^1\text{H}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) :  $\delta = 7.98\text{-}7.93$  et  $7.50\text{-}7.26$  (m, 10H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ),  $5.89\text{-}5.76$  (m, 2H,  $H\text{-}3$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $5.31\text{-}5.11$  (m, 4H,  $H\text{-}1$ ,  $H\text{-}2$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $4.23$  (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $4.05\text{-}3.92$  (m, 6H,  $H\text{-}4$ ,  $H\text{-}5$ ,  $H\text{-}6a$ ,  $H\text{-}6b$ ,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ,  $\text{OH}\text{-}4$  ou  $\text{OH}\text{-}6$ ),  $3.00$  (sl, 1H,  $\text{OH}\text{-}4$  ou  $\text{OH}\text{-}6$ ) ; **RMN  $^{13}\text{C}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) :  $\delta = 167.0$  et  $165.9$  (OCOPh),  $133.3\text{-}128.3$  ( $\text{C}_{\text{arom}}$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $117.5$  ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $95.1$  (C-1),  $73.8$ ,  $71.6$ ,  $71.5$ ,  $69.3$ ,  $68.4$  et  $61.6$  (C-2, C-3, C-4, C-5, C-6 et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ). **ESI $^+$ -HRMS**:  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_8$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  : 451.1363 ; trouvée : 451.1394.

**Méthyl-2,3-di-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyluronate d'allyle (18).**



A une solution de composé **17** (170 mg, 0.40 mmol, 1 équiv.) dans un mélange dichlorométhane/eau (3-1, 4 mL) sont ajoutés du 2,2,6,6-tétraméthylpipéridine-1-oxyle (radical TEMPO - 13 mg, 0.08 mmol, 0.2 équiv.) et du bisacétoxyiodobenzène (BAIB - 326

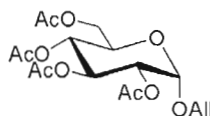
mg, 0.99 mmol, 2.5 équiv.). Le mélange est agité vigoureusement pendant 40 minutes à température ambiante puis la réaction est arrêtée par ajout d'une solution de thiosulfate de sodium (1M, 20 mL). La phase aqueuse, acidifiée avec de l'acide chlorhydrique (1M), est extraite plusieurs fois au dichlorométhane. Les phases organiques sont regroupées, séchées sur sulfate de sodium anhydre puis concentrées.

Le résidu est repris dans du méthanol sec (5 mL) et du chlorure de thionyle (87  $\mu$ L, 1.19 mmol, 3 équiv.) est ajouté à 0°C. Après 12 h à température ambiante, le milieu réactionnel est concentré. Une purification par chromatographie rapide sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle : 3-1) permet d'obtenir le produit **18**<sup>110</sup> (51 mg, 0.11 mmol) avec 32% de rendement.  $R_f$  0.37 (hexane/acétate d'éthyle : 2-1);  $[\alpha]_D = +129$  ( $c = 1.0$  dans  $\text{CHCl}_3$ ) ; **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)** :  $\delta = 8.02$ -7.97, 7.55-7.49 et 7.41-7.38 (m, 10H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 5.93-5.78 (m, 2H,  $H$ -3 et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 5.37(d, 1H,  $J_{1,2} = 3.6$  Hz,  $H$ -1), 5.27 (dd, 1H,  $J_{2,3} = 10.1$  Hz,  $H$ -2), 5.35-5.33, 5.29-5.28 et 5.19-5.14 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 4.44 (d, 1H,  $J_{4,5} = 9.9$  Hz,  $H$ -5), 4.34-4.28 (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 4.20 (td, 1H,  $J_{3,4} = 9.6$  et  $J_{4,\text{OH}} = 3.9$  Hz,  $H$ -4), 4.17-4.06 (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 3.88 (s, 3H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 3.40 (d, 1H,  $\text{OH}$ -4); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)** :  $\delta = 170.2$  ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 166.5 et 165.8 ( $\text{OCOPh}$ ), 133.4-128.3 ( $\text{C}_{\text{arom.}}$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 118.1 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 95.5 (C-1), 72.4, 70.9, 70.7 et 70.6 (C-2, C-3, C-4 et C-5), 69.0 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 52.9 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ). **ESI $^+$ -HRMS**:  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_9$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$  : 479.1313 ; trouvée : 479.13138.

---

<sup>110</sup> Lin, F.; Peng, W.; Xu, W.; Han, X.; Yu, B. *Carbohydr. Res.* **2004**, 339, 1219-1223.

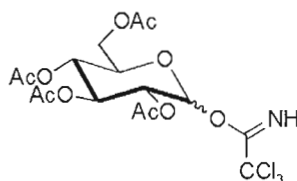
**2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle (19)**



Une solution de D-glucose (500 mg, 2.7 mmol) dans l'alcool allylique (5 mL) en présence de résine amberlite (500 mg) est mise dans un tube scellé sous pression. Le mélange est placé dans un réacteur à micro ondes pendant une dizaine de minutes à 120°C. La solution refroidie est aussitôt filtrée sur coton puis concentrée.

Le résidu est repris dans de la pyridine (15 mL) puis refroidi à 0°C pour ajout d'anhydride acétique (15 mL) et d'une quantité catalytique de diméthylaminopyridine (DMAP). La réaction est poursuivie une nuit à température ambiante puis arrêtée par ajout de méthanol froid. La solution est ensuite successivement lavée avec une solution saturée, de hydrogénosulfate de potassium, d'hydrogénocarbonate de sodium et d'eau, séchée sur sulfate de sodium anhydre et concentrée. Une purification flash sur gel de silice (hexane/acétate d'ethyle 7 :1, 6 :1, 5 :1, 4 :1, 3 :1) permet d'obtenir l'anomère  $\alpha$  (655mg, 1.62 mmol) du produit pur avec 61% de rendement. **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)** :  $\delta$  = 5.83-5.71 (m,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 5.38 (t, 1H,  $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.6$  Hz,  $H$ -3), 5.23-5.096 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 4.99-4.91 (m, 2H,  $J_{1,2} = 3.6$  Hz et  $J_{4,5} = 10.2$  Hz,  $H$ -1 et  $H$ -4), 4.76 (dd, 1H,  $H$ -2), 4.18-4.06 (m, 2H,  $H$ -6a et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 3.99-3.89 (m, 3H,  $H$ -5,  $H$ -6b et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ) et 1.97-1.89 (s, 4x3H,  $\text{OCOCH}_3$ ) ; **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)** :  $\delta$  = 170.3, 169.9, 169.8, 169.3 ( $\text{COCH}_3$ ), 135.1 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 118.1 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 95.1 (C-1), 70.9, 70.7, 70.0, 69.9 (C-2, C-3, C-4 et C-5), 61.5 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 21.4, 20.6, 20.1 et 19.9 ( $\text{OCOCH}_3$ ). **ESI $^+$ -HRMS**:  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$  : 411.12617; trouvée : 411.12618.

**2,2,2-Trichloroacétimide de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-D-glucopyranose (20).**



A une solution de D-glucose (1.006 g, 5.55 mmol, 1 équiv.) dans la pyridine distillée (30 mL), est ajouté à 0°C de l'anhydride acétique (15 mL) et une quantité catalytique de 4-diméthylaminopyridine (DMAP). Après 12 h à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'excès d'anhydride acétique est détruit par addition de méthanol à froid puis la solution est concentrée et co-évacuée plusieurs fois au toluène. Le résidu est repris dans le dichlorométhane, lavé successivement avec des solutions saturées d'hydrogénosulfate de potassium et d'hydrogencarbonate de sodium, à l'eau, et avec une solution saturée de chlorure de sodium, séché sur sulfate de sodium puis concentré.

Le composé per-*O*-acétylé, repris dans du dichlorométhane distillé (55 mL), est chauffé à reflux sous azote en présence de morpholine (1.95 mL, 22.2 mmol, 4 équiv.) pendant 12 h. L'excès de morpholine est éliminé par lavage avec une solution d'acide chlorhydrique (1M), et à l'eau. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium anhydre puis concentrée.

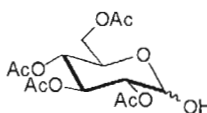
L'hémiacétal est alors repris dans le dichlorométhane distillé (30 mL). Du trichloroacétonitrile (5.7 mL, 55.5 mmol, 10 équiv.) et du carbonate de potassium (4.261 g, 30.5 mmol, 5.5 équiv.) sont ajoutés. Le milieu réactionnel est maintenu à 40°C pendant 3.5 h. De retour à température ambiante, le mélange est dilué avec du dichlorométhane, lavé à l'eau glacée, séchée sur sulfate de sodium anhydre et concentré. Une purification par chromatographie rapide (hexane/acétate d'éthyle : 3-2) sur gel de silice préalablement conditionné par l'éluant contenant 1% de triéthylamine permet d'obtenir le composé **20**<sup>111</sup> (1.193 g, 2.42 mmol) avec 44% de rendement, dans un ratio  $\alpha/\beta$  : 7-4.  $R_f$  0.58 et 0.44

<sup>111</sup> Cheng, H.; Cao, X.; Xian, M.; Fang, L.; Cai, T. B.; Ji, J. J.; Tunac, J. B.; Sun, D.; Wang, P. G. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 645-652.



(hexane/acétate d'éthyle : 3-2 + 1% de triéthylamine); RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) :  $\delta$  = 8.73 et 8.70 ( $\text{NH}^{\alpha \text{ et } \beta}$ ), 6.57 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 3.6 Hz,  $H-1^{\alpha}$ ), 5.88 (d, 0.6H,  $J_{1,2}$  = 7.7 Hz,  $H-1^{\beta}$ ), 5.58, 5.32-5.12, 4.37-4.09 et 4.94-4.90 (m, 9.6H,  $H-2^{\alpha \text{ et } \beta}$ ,  $H-3^{\alpha \text{ et } \beta}$ ,  $H-4^{\alpha \text{ et } \beta}$ ,  $H-5^{\alpha \text{ et } \beta}$ ,  $H-6a^{\alpha \text{ et } \beta}$  et  $H-6b^{\alpha \text{ et } \beta}$ ), 2.12-2.02 (m, 19.2H,  $\text{OCOCH}_3^{\alpha \text{ et } \beta}$ ).

### 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-D-glucopyranose (21).

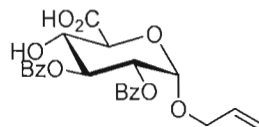


Du 1,2,3,4,6-penta-*O*-acétyl-D-glucopyranose (195 mg, 0.50 mmol, 1 équiv.), solubilisé dans du diméthylformamide (DMF, 7.5 mL), est chauffé à reflux en présence d'acétate d'hydrazine (69 mg, 0.75 mmol, 1.5 équiv.) pendant 15 min. Après dilution dans de l'acétate d'éthyle, le milieu est lavé avec une solution saturée de chlorure de sodium, séché sur sulfate de sodium anhydre et concentré. Après purification par chromatographie rapide sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle: 1-1), le composé **21**<sup>112,113</sup> (146 mg, 0.42 mmol) est obtenu avec 84% de rendement.  $R_f$  0.27 (hexane/acétate d'éthyle : 1-1); RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) :  $\delta$  = 5.46 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 3.3 Hz,  $H-1^{\alpha}$ ), 4.74 (d, 0.4H,  $J_{1,2}$  = 8.4 Hz,  $H-1^{\beta}$ ); RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) :  $\delta$  = 170.8-169.6 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 95.5 ( $\text{C}-1^{\beta}$ ), 90.1 ( $\text{C}-1^{\alpha}$ ), 73.2, 72.2, 72.0, 71.0, 69.8, 68.4, 68.4 et 67.1 ( $\text{C}-2^{\alpha \text{ et } \beta}$ ,  $\text{C}-3^{\alpha \text{ et } \beta}$ ,  $\text{C}-4^{\alpha \text{ et } \beta}$  et  $\text{C}-5^{\alpha \text{ et } \beta}$ ) 61.9 ( $\text{C}-6^{\alpha \text{ et } \beta}$ ) et 20.7, 20.7, 20.6, 20.6 ( $\text{OCOCH}_3$ ).

<sup>112</sup> Fernandez-Lorente, G.; *et al. Tetrahedron* **2003**, 59, 5705-5711

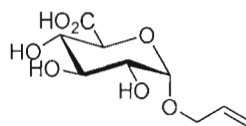
<sup>113</sup> Sim, M. M.; Kondo, H.; Wong, C. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 2260-2267

### Acide 2,3-di-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyluronique d'allyle (**23**)



A une solution de composé **17** (100 mg, 0.23 mmol) dans un mélange dichlorométhane/eau (3-1, 2.5 mL) sont ajoutés du bisacetoxyiodobenzène (191 mg, 0.58 mmol, 2.5 équiv.) et du 2,2,6,6-tétraméthylpipéridine-1-oxyle (radical TEMPO - 11 mg, 0.07 mmol, 0.3 équiv.). Le mélange réactionnel est violemment agité pendant 30 minutes à température ambiante puis concentré. Une purification sur gel de silice flash (acétate d'éthyle) permet d'obtenir l'acide **23** (99 mg, 0.22 mmol) avec un rendement de 96%. **RMN  $^1\text{H}$  (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz)** :  $\delta$  = 8.00-7.94, 7.51-7.25 (m, 10H, H<sub>arom.</sub>), 5.95-5.78 (m, 2H, H-3 et OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 5.37(sl, 1H, H-1), 5.28-5.16, et 5.16-5.07 (m, 3H, H-2, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 4.40 (d, 1H,  $J_{4,5}$  = 9.9 Hz, H-5), 4.34-4.28 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 4.20 (td, 1H,  $J_{3,4}$  = 9.6 et  $J_{4,OH}$  = 3.9 Hz, H-4), 4.24-4.06 (m, 3H, H-4 et OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>); **RMN  $^{13}\text{C}$  (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz)** :  $\delta$  = 174.2 (CO<sub>2</sub>H), 166.3 et 165.8 (OCOPh), 133.2-128.2 (C<sub>arom.</sub> et OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 117.8 (OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 95.2 (C-1), 72.4, 71.1, 70.6 et 68.4 (C-2, C-3, C-4 et C-5), 66.4 (OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>). **ESI<sup>+</sup>-HRMS**:  $m/z$  calculée pour C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>O<sub>9</sub> [M + Na]<sup>+</sup> : 465.11560

### Acide $\alpha$ -D-glucopyranosyluronique d'allyle (**24**)

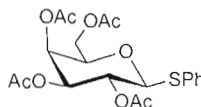


**1<sup>ère</sup> méthode** : Le composé **23** (90 mg, 0.20 mmol) est dissout dans une solution de méthanolate de sodium dans le méthanol à pH10 (2 mL) à température de la pièce. La réaction de Zemplén est ainsi poursuivie pendant une nuit puis la solution est neutralisée par ajout de résine amberlite sous agitation. Le mélange est ensuite filtré sur coton puis

concentré. Le composé **24** (45 mg, 0.19 mmol) est obtenu pur sans purification avec un rendement de 98%.

2<sup>ème</sup> méthode : L'acide glucuronique (300 mg, 1.54 mmol, 1 équiv.) est soumis à une glycosidation de Fischer en présence d'alcool allylique (3 mL) en micro-onde selon le protocole B. Le composé **24** (90 mg, 0.39 mmol) est obtenu par recristallisation dans l'éthanol avec 25% de rendement.  $R_f = 0.27$ , AcOEt/MeOH/CHCl<sub>3</sub> 1 : 1 : 2 ; **RMN** <sup>13</sup>C (**D**<sub>2</sub>O, 75 MHz) :  $\delta = 176.7$  (CO<sub>2</sub>H), 133.6 (OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 118.4 (OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 97.6 (C-1), 73.0, 72.3, 72.2 et 71.2 (C-2, C-3, C-4 et C-5), 68.8 (OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>). **ESI<sup>+</sup>-HRMS**:  $m/z$  calculée pour C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub> [M + Na]<sup>+</sup> : 257.19 ; trouvée : 257.16.

#### 2,3,4,6-Tétra-*O*-acétyl-1-thio- $\beta$ -D-galactopyranoside de phényle (**26**)<sup>114,115</sup>



À une solution du  $\beta$ -acétal (10.00 g, 26.78 mmol, 1.00 équ.) dissout dans du dichlorométhane distillé (200 mL) est ajouté du thiophénol (4.1 mL, 40.17 mmol, 1.50 équ.) à 0 °C. L'acide de Lewis BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O (5.1 mL, 40.17 mmol, 1.5 équ.) est ensuite ajouté goutte à goutte à 0 °C. Après 3h sous agitation à 0 °C, le milieu réactionnel est dilué avec du dichlorométhane, lavé avec des solutions saturées de NaHCO<sub>3</sub> et NaCl. La phase organique est séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtré et concentrée. Le composé thiolé **26** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 2 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 90% de la forme  $\beta$  (10.61 g, 24.10 mmol). Pf : 65-66 °C (Litt.<sup>116</sup> 65-67 °C) ;  $R_f = 0.33$ , hexane/AcOEt 2 : 1 ;  $[\alpha]_D^{24} +4$  ( $c=1.0$ , CHCl<sub>3</sub>)

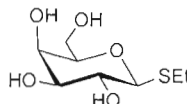
<sup>114</sup> Agnihotri, G.; Tiwari, P. and Misra, A. K., *Carbohydr. Res.*, **2005**, 340, 1393-1396.

<sup>115</sup> Motawia, M. S.; Olsen, C. E.; Denyer, K.; Smith, A. M. and Møller, B. L., *Carbohydr. Res.*, **2001**, 330, 309-318.

<sup>116</sup> Weng, S.-S.; Lin, Y.-D. and Chen, C.-T., *Org. Lett.*, **2006**, 8, 5633-5636.

[Litt. <sup>116</sup>  $[\alpha]_D^{26} +4.2$  ( $c=1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ )] ; **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 25 °C)**:  $\delta = 7.53\text{-}7.50$  (m, 2H,  $H_{\text{arom}}$ ), 7.33-7.30 (3H, m  $H_{\text{arom}}$ ), 5.42 (d, 1H,  $J_{3,4} = 3.2\text{Hz}$ ,  $H\text{-}4$ ), 5.24 (t, 1H,  $J_{2,3} = 9.9\text{Hz}$ ,  $H\text{-}2$ ), 5.07 (dd, 1H,  $J_{3,4} = 3.3\text{ Hz}$ ,  $J_{2,3} = 9.9\text{Hz}$ ,  $H\text{-}3$ ), 4.74 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.9\text{Hz}$ ,  $H\text{-}1$ ), 4.22-4.09 (m, 2H,  $H\text{-}6\text{a}$  et  $H\text{-}6\text{b}$ ), 3.96 (m, 1H,  $H\text{-}5$ ), 2.12, 2.10, 2.04, 1.97 ppm (s, 12H,  $\text{COCH}_3$ ) ; **RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**:  $\delta = 170.0$ , 169.9, 169.7, 169.1 ( $\text{COCH}_3$ ), 132.4, 132.3, 128.7, 127.9 ( $C_{\text{arom}}$ ), 86.2 ( $C\text{-}1$ ), 74.2 ( $C\text{-}5$ ), 71.8 ( $C\text{-}3$ ), 67.1 ( $C\text{-}2$ ), 67.1 ( $C\text{-}4$ ), 61.5 ( $C\text{-}6$ ), 20.5, 20.4, 20.4, 20.3 ppm ( $\text{COCH}_3$ ). **ESI<sup>+</sup>-HRMS** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_9\text{SNa}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  : 463.10332 ; trouvée : 463.10267.

### 1-thio- $\beta$ -D-galactopyranoside d'éthyle (27)

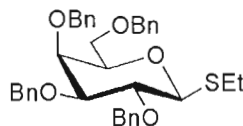


Le tétra-acétylé **20** (393 mg, 1.00 mmol) est dé-*O*-acétylé suivant le *Protocole A* conduisant au composé désiré **24** sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement quantitatif (224 mg, 1.00 mmol). Pf : 121.5-122.5 (EtOH/AcOEt) (Litt. <sup>117</sup> 120-122 °C) ;  $R_f = 0.46$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  9 : 1 ;  $[\alpha]_D^{24} -23.5$  ( $c$  1.1,  $\text{H}_2\text{O}$ )<sup>118</sup> ;  **$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 20.1 °C)**:  $\delta = 4.48$  (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.6\text{Hz}$ ,  $H\text{-}1$ ), 3.97 (d, 1H,  $J_{3,4} = J_{4,5} = 2.9\text{Hz}$ ,  $H\text{-}4$ ), 3.79-3.51 (m, 5H,  $H\text{-}5$ ,  $H\text{-}6\text{a}$ ,  $H\text{-}6\text{b}$ ,  $H\text{-}3$ ,  $H\text{-}2$ ), 2.78-2.73 (m, 2H,  $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ), 1.27 ppm (t, 1H,  $J_{\text{CH}_2\text{-CH}_3} = 7.4\text{Hz}$ ,  $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ) ;  **$^{13}\text{C}$  RMN (75MHz,  $\text{D}_2\text{O}$  + acétone)**:  $\delta = 86.2$  ( $C\text{-}1$ ), 79.5 ( $C\text{-}5$ ), 74.5 ( $C\text{-}3$ ), 70.2 ( $C\text{-}2$ ), 69.4 ( $C\text{-}4$ ), 61.6 ( $C\text{-}6$ ), 24.8 ( $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ), 15.1 ppm ( $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ). **ESI<sup>+</sup>-HRMS** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_5\text{SNa}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  : 247.06107 ; trouvée : 247.06098.

<sup>117</sup> Fried, J.; Walz, D. E. *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, 71, 140-143.

<sup>118</sup> Lemieux, R. U. *Can. J. Chemistry*, **1951**, 29, 1079-91.

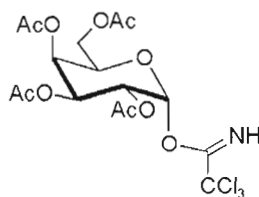
### 2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-1-thio- $\beta$ -D-galactopyranoside d'éthyle (28)



Du 2,3,4,6-tetra-*O*-acétyl- $\beta$ -D-galactopyranoside de thioéthyle subit une réaction de Zemplén.

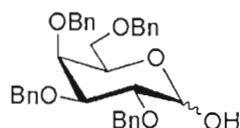
Par la suite, à une solution d'hydruure de sodium (822 mg, 20.46 mmol, 12 équiv.) dans du DMF (10 mL) à 0°C est ajoutée goutte à goutte une solution également refroidie de  $\alpha$ -D-galactopyranoside de thioéthyle (384 mg, 1.71 mmol) dans le DMF (7 mL) sous azote. Après une agitation du mélange durant 30 minutes, une quantité catalytique de iodure de tetrabutylammonium, du bromure de benzyle (2.46 mL, 20.46 mmol, 12 équiv.) est ajouté et la réaction poursuivie pour une nuit à TP. Le milieu est lavé dans un mélange eau glacée/hexane/acetate d'éthyle 4 : 1 : 4, séché sur sulfate de sodium anhydre puis concentré. Une purification sur gel de silice flash (hexane/acetate d'éthyle : 4-1) permet d'obtenir le composé quantitativement. ; **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**:  $\delta$  = 7.40-7.24 (m, 20H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 4.97-4.72 (m, 5H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 4.47-4.37 (m, 3H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 4.61 (d, 1H,  $J_{1,2} = 9.6$  Hz,  $H-1$ ), 3.95 (d, 1H,  $J_{3,4} = J_{4,5} = 2.9$  Hz,  $H-4$ ), 3.82 (t, 1H,  $J_{6a,6b} = J_{5,6a} = 10.2$  Hz,  $H-6a$ ), 3.61-3.58 (m, 4H,  $H-5$ ,  $H-6b$ ,  $H-3$ ,  $H-2$ ), 2.78-2.73 (m, 2H,  $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ), 1.27 ppm (t, 1H,  $J_{\text{CH}_2-\text{CH}_3} = 7.4$  Hz,  $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ) ; **RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**:  $\delta$  = 142.2, 141.8, 141.7, 141.3 ( $\text{C}_{\text{qarom.}}$ ), 131.9-130.9 ( $\text{C}_{\text{arom.}}$ ), 88.8 (C-1), 87.5, 81.9, 80.9, 80.6, 80.4, 80.1, 79.2, 76.1 et 72.2 (C-2, C-3, C-4, C-5, C-6 et  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 28.2 ( $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ), 18.5 ( $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ). **ESI $^+$ -HRMS**:  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{O}_5\text{S}$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$  : 607.24886 ; trouvée : 607.21.

**2,2,2-Trichloroacétimide de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-galactopyranose (**29a**) et 2,2,2-Trichloroacétimide de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\beta$ -D-galactopyranose (**29b**)**



A une solution refroidie à 0°C et sous azote de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-D-galactopyranose (500 mg, 1.3 mmol, 1 équiv.) dans du dichlorométhane distillé (12 mL) sont ajoutés du trichloroacétonitrile (655  $\mu$ L, 6.4 mmol, 5 équiv.) et du 1,8-diazabicyclo[5-4-0]undéc-7-ène (DBU - 118  $\mu$ L, 0.77 mmol, 0.6 équiv.). Après 1 h de réaction à 0°C et après 1 h à température ambiante, le mélange est concentré. Une purification par chromatographie rapide (hexane/acétate d'éthyle : 3-2) sur gel de silice préalablement conditionné par l'éluant hexane/acétate d'éthyle : 2-1 contenant 1% de triéthylamine permet d'obtenir successivement les composés **29a** (458 mg, 0.93 mmol) et **29b** (40 mg, 0.08 mmol) avec respectivement 73% et 6% de rendement.  $R_f$  du composé **29a** 0.49 (hexane/acétate d'éthyle : 3-2 + triéthylamine) ; **RMN  $^1\text{H}$  de l'anomère  $\alpha$ -D **29a** ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) :**  $\delta$  = 8.68 (s, 1H, NH), 6.61 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 3.2 Hz,  $H$ -1) 5.57 (dd, 1H,  $J_{3,4}$  = 3.0 Hz et  $J_{4,5}$  = 1.3 Hz,  $H$ -4), 5.46-5.35 (m, 2H,  $H$ -2 et  $H$ -3), 4.45 (tl, 1H,  $J_{5,6a} = J_{6a,6b}$  = 6.0 Hz,  $H$ -6a), 4.21-4.06 (m, 2H,  $H$ -5 et  $H$ -6b), 2.17, 2.05, 2.04 et 2.03 (4s, 4x3H,  $\text{CH}_3$ ). **ESI $^+$ -HRMS :**  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_{10}\text{Cl}_3\text{N}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  : 514.0045 ; trouvée : 514.0041.

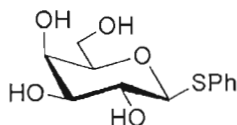
**2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranose (30)**



Une solution de  $\beta$ -D-galactopyranoside de méthyle (500mg, 2.57 mmol) dans du diméthylformamide sec (DMF, 15 mL) est ajouté goutte à goutte dans un mélange d'hydruure de sodium (1.24 mg, 30.90 mmol, 12 équiv.) dans le DMF (15 mL) à 0°C et sous azote. Le mélange réactionnel est agité pendant trente minutes à cette température puis de l'iodure de tetrabutylammonium (TBAI) en quantité catalytique et du bromure de benzyle (3.68 mL, 30.90 mmol, 12 équiv.) sont ajoutés. Après une nuit à température ambiante, la solution est lavée dans un mélange eau glacée/hexane/dichlorométhane (4 : 1 : 4).

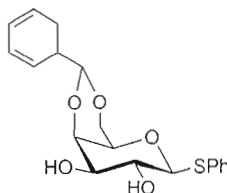
Le résidu est repris dans une solution d'acide acétique/HCl (80%, 1N, 4 : 1, 2.5 mL) portée à reflux pendant 24 heures. Le composé est ensuite lavé dans une solution de bicarbonate de soude saturée, extrait à l'acétate d'éthyle, séché sur sulfate de sodium anhydre puis concentré. Suite à une purification sur gel de silice flash (hexane/acetate d'éthyle : 1-1), l'hémiacétal (80 mg, 0.15 mmol) est obtenu avec 82% de rendement. .  $R_f = 0.46$ , Hexane/AcOEt 2 : 1; **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)** :  $\delta = 7.36\text{-}7.27$  (m, 20H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 5.95-5.78 (m, 2H,  $H\text{-}3$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 5.37(sl, 1H,  $H\text{-}1$ ), 5.28-5.16, et 5.16-5.07 (m, 3H,  $H\text{-}2$ ,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 4.40 (d, 1H,  $J_{4,5} = 9.9$  Hz,  $H\text{-}5$ ), 4.34-4.28 (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 4.20 (td, 1H,  $J_{3,4} = 9.6$  et  $J_{4,\text{OH}} = 3.9$  Hz,  $H\text{-}4$ ), 4.24-4.06 (m, 3H,  $H\text{-}4$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)** :  $\delta = 174.2$  ( $\text{CO}_2\text{H}$ ), 166.3 et 165.8 ( $\text{OCOPh}$ ), 133.2-128.2 ( $\text{C}_{\text{arom.}}$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 117.8 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 95.2 (C-1), 72.4, 71.1, 70.6 et 68.4 (C-2, C-3, C-4 et C-5), 66.4 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ).

### 1-thio- $\beta$ -D-galactopyranoside de phényle (31)



A partir du 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranoside de thiophényle (1.00 g, 2.27 mmol) est réalisée une réaction de Zemplén dans les conditions classiques. La neutralisation du pH basique de la solution est effectuée après une heure d'agitation à température de la pièce par ajout de résine Amberlite, échangeuse d'ions. Le filtrat est ensuite concentré puis lyophilisé pour une nuit. Le galactoside libre (618 mg, 2.27 mmol) est obtenu avec un rendement quantitatif.  $R_f$ (acétonitrile : eau 9-1) = 0.62; ).  $Pf$  : 97-101 °C<sup>119</sup> ;  $R_f$  = 0.54, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 9 : 1 ;  $[\alpha]_D^{24}$  32 ( $c=1.0$ , MeOH)<sup>119</sup> [Litt.<sup>120</sup>  $[\alpha]_D^{22}$  31.0 ; ( $c=1.0$ , CHCl<sub>3</sub>)] ; **RMN** <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 23 °C):  $\delta$  = 7.44-7.41 (m, 2H, H<sub>arom</sub>), 7.30-7.18 (m, 3H, H<sub>arom</sub>), 5.14 (s, 1H, OH), 4.90 (s, 1H, OH), 4.63 (s, 1H, OH), 4.55 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 9.3Hz, H-1), 3.68 (s, 1H, OH), 3.50-3.33 ppm (m, 7H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6a, H-6b) ; **RMN** <sup>13</sup>C (75 MHz, D<sub>2</sub>O + acétone):  $\delta$  = 133.3, 131.7, 130.0, 128.5 (C<sub>arom</sub>), 88.7 (C-1), 79.6 (C-5), 74.6 (C-3), 69,8 (C-2), 69.3 (C-4), 61.6 ppm (C-6). **ESI<sup>+</sup>-MS**:  $m/z$  calculée pour C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>SNa [M + Na]<sup>+</sup> : 295.0610 ; trouvée : 295.0612.

### 4,6-*O*-Benzylidène-1-thio- $\beta$ -D-galactopyranoside de phényle (33)<sup>121,122</sup>



<sup>119</sup> Osswald, M.; Zeitschrift fuer Naturforschung, B., *Chem. Sci.*, **2003**, 58, 764-774.

<sup>120</sup> Imamura, A., *Chem. Eur. J.*, **2006**, 12, 8862-8870.

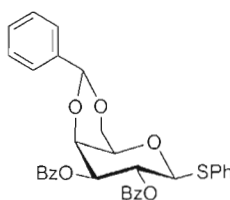
<sup>121</sup> Gan, Z., Cao, S. Wie, Q. et Roy, R., *J. Carbohydr. Chem.*, **1999**, 755-773.

<sup>122</sup> Ulf, E. and Göran, M., *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 9314-9322.



Le 4,6-diol **31** (273 mg, 1.00 mmol) est solubilisé dans de l'acétonitrile (3 mL) à 50 °C (15 min.). De l' $\alpha,\alpha$ -diméthoxytoluène (450  $\mu$ l, 3.00 mmol, 3.00 éq.) et une quantité catalytique d'acide *p*-toluènesulfonique monohydraté (~4 mg) sont ajoutés. Le milieu réactionnel est agité à 65 °C pendant 3h30. De retour à température ambiante, le milieu réactionnel est neutralisé par ajout d'Et<sub>3</sub>N (10  $\mu$ l) puis concentré. Le composé est purifié par chromatographie sur gel de silice (CHCl<sub>3</sub> puis CHCl<sub>3</sub>/MeOH 97 : 3) conduisant avec un rendement de 90% (324 mg, 0.90 mmol) au benzylidène **33** désiré sous la forme d'un solide blanc. Pf : 114-125 °C (EtOH)<sup>121</sup> (Litt.<sup>123</sup> 119-120 °C) ;  $R_f$  = 0.51, CHCl<sub>3</sub>/MeOH 9 : 1 ;  $[\alpha]_D^{20}$  -30 ( $c$ =1.0, CHCl<sub>3</sub>) (Litt.<sup>121</sup> -29.7) ; **RMN** <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25 °C):  $\delta$  = 7.68-7.64 (2H, H<sub>arom</sub>), 7.39-7.26 (8H, H<sub>arom</sub>), 5.47 (s, 1H, CHPh), 4.46 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 8.9Hz, *H*-1), 4.33 (dd, 1H,  $J_{6a,6b}$  = 1.4Hz,  $J_{5,6a}$  = 12.5Hz, *H*-6a), 4.13 (d, 1H,  $J_{4,5}$  = 2.5Hz, *H*-4), 3.97 (dd, 1H,  $J_{6a,6b}$  = 1.6Hz,  $J_{5,6b}$  = 12.5Hz, *H*-6b), 3.70-3.58 (m, 2H, *H*-2 et *H*-3), 3.45 (sl, 1H, *H*-5), 3.04-3.00 ppm (m, 2H, OH-2 et OH-3) ; **RMN** <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 137.6 (C<sub>q-arom</sub>), 133.6 (C<sub>arom</sub>), 130.9 (C<sub>q-arom</sub>), 129.3, 128.9, 128.2, 128.1, 126.5 (C<sub>arom</sub>), 101.4 (CHPh), 87.0 (C-1), 75.4 (C-5), 73.8 (C-3), 70.0 (C-2), 69.2 (C-4), 68.8 ppm (C-6). **ESI<sup>+</sup>-MS**:  $m/z$  calculée pour C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub>SNa [M + Na]<sup>+</sup> : 383.09237 ; trouvée : 383.09218.

### 2,3-Di-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidène-1-thio- $\beta$ -D-galactopyranoside de phényle (**34**)

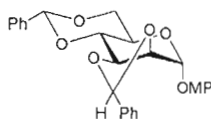


À une solution du 2,3-diol **33** (360 mg, 1.00 mmol) dissout dans la pyridine distillée (10 mL) est ajouté du chlorure de benzoyle (1.12 mL, 2.4 mmol, 2.40 éq.) sous atmosphère

<sup>123</sup> Deng, S.; Yu, B.; Guo, Z.; Hui, Y. *J. Carbohydr. Chem.*, **1998**, 17, 439-452.

d'azote et à 0 °C. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pour la nuit, puis dilué avec du dichlorométhane et versé dans l'eau glacée. La phase organique est lavée avec des solutions saturées de KHSO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub> et NaCl, séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtré et concentrée. Le benzylidène est purifié par cristallisation (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/éther de pétrole) conduisant au composé 2,3-dibenzoylé **34** désiré sous la forme de cristaux blancs avec un rendement de 97% (551 mg, 0.97 mmol). Pf : 165-167 °C (CHCl<sub>2</sub>/EP) (Litt.<sup>124</sup> 163 °C ; Litt.<sup>123</sup> 169-170 °C) ; *R<sub>f</sub>* = 0.56, hexane/AcOEt 3 : 1 ;  $[\alpha]_D^{24}$  +65 (*c* 1.0, CHCl<sub>3</sub>) (Litt.<sup>123</sup> +64.2 *c*=1.1 CHCl<sub>3</sub>) ; **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25 °C)**: δ = 7.99-7.91 (m, 4H, *H*<sub>arom</sub>), 7.63-7.22 (m, 16H, *H*<sub>arom</sub>), 5.81 (t, 1H, *J*<sub>1,2</sub> = *J*<sub>2,3</sub> = 9.9Hz, *H*-2), 5.51 (s, 1H, PhCH), 5.37 (dd, 1H, *J*<sub>3,4</sub> = 3.3Hz, *J*<sub>2,3</sub> = 9.9Hz, *H*-3), 4.96 (d, 1H, *J*<sub>1,2</sub> = 9.9Hz, *H*-1), 4.60 (d, 1H, *J*<sub>3,4</sub> = 3.3Hz, *H*-4), 4.45 (dd, 1H, *J*<sub>6a,6b</sub> = 1.6Hz, *J*<sub>5,6</sub> = 12.4Hz, *H*-6a), 4.10 (dd, 1H, *H*-6b), 3.76 ppm (sl, 1H, *H*-5) ; **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: δ = 166.1, 164.9 (COPh), 137.5, 133.8, 133.3, 133.1, 131.0, 130.0, 129.7, 129.6, 129.0, 128.8, 128.3, 128.2, 128.1, 126.4 (*C*<sub>arom</sub>), 100.9 (*C*-1), 85.2 (PhCH), 74.3 (*C*-5), 73.6 (*C*-3), 69.9 (*C*-2), 69.1 (*C*-4), 67.0 ppm (*C*-6). **ESI<sup>+</sup>-MS** : *m/z* calculée pour C<sub>33</sub>H<sub>28</sub>O<sub>7</sub>Sn [M + Na]<sup>+</sup> : 591.14534 ; trouvée : 591.14479.

### 2,3-4,6-di-O-benzylidène-α-D-mannopyranoside de *p*-methoxyphényle (**35**)

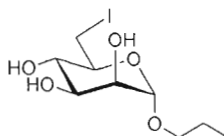


A une solution de α-D-mannopyranoside de *p*-methoxyphényle (1.00g, 3.49 mmol, 1 équiv.) dans le benzaldéhyde (15 mL) est ajouté du chlorure de zinc (972 mg, 7.00 mmol, 2 équiv.), préalablement séché à la flamme. Après 48 h, la solution est précipitée dans un mélange eau glacée/hexane. Le précipité est filtré sur fritté, trituré successivement à l'eau glacée puis à l'hexane, et séché. Après recristallisation dans de l'éthanol absolu, le composé **35**<sup>11</sup> (4.284 g, 0.01 mol) est obtenu avec un rendement de 70% toluène méthanol 4 : 1. *R<sub>f</sub>* =

<sup>124</sup> Zeigler, T.; Eckhardt, E. and Herold, G. *Liebigs Ann. Chem.*, **1992**, 441.

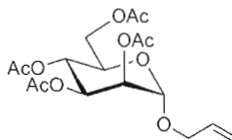
0.94. **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz):**  $\delta$  = 7.57-7.40 (m, 10H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 7.01-6.98 et 6.88-6.84 (m, 2x2H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 6.36 (s, 1H,  $H-7a$ ), 5.75 (sl, 1H,  $H-1$ ), 5.67 (s, 1H,  $H-7b$ ), 4.82 (dd, 1H,  $J_{2,3}$  = 5.5 Hz et  $J_{3,4}$  = 7.4 Hz,  $H-3$ ), 4.39 (d, 1H,  $H-2$ ), 4.29 (dd, 1H,  $J_{6a,6b}$  = 10.2 Hz et  $J_{6a,5}$  = 4.4 Hz,  $H-6a$ ), 4.06-3.96 (m, 2H,  $H-4$  et  $H-5$ ), 3.85-3.79 (m, 4H,  $H-6b$  et  $\text{CH}_3$ ) ; **RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz):**  $\delta$  = 155.3 ( $\text{C}_{\text{qarom.}}$ ), 149.8 ( $\text{C}_{\text{qarom.}}$ ), 138.4, 137.0, 129.2, 129.1, 128.4, 128.2, 126.3, 126.1 ( $\text{C}_{\text{arom.}}$ ), 117.9 ( $\text{C}^{\text{a}}\text{HPh}$ ), 114.7 ( $\text{C}^{\text{b}}\text{HPh}$ ), 103.1, 102.0, 96.9 (C-1), 77.4, 75.6, 75.3, 68.7, 61.1 (C-2, C-3, C-4, C-5, C-6), 55.6 ( $\text{CH}_3$ ). **ESI $^+$ -HRMS:**  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{O}_7$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  : 485.15707.

### 6-Deoxy-6-iodo- $\alpha$ -D-mannopyranoside de propyle (36)



À une solution du  $\alpha$ -D-mannopyranoside de propargyle (32 mg, 0.10 mmol, 1.00 éq.) dissout dans de l'éthanol absolu, sont ajoutés de la triéthylamine (3 gouttes) et d'une quantité catalytique du réactif de « Lindlar ». Le milieu réactionnel est agité sous atmosphère d'hydrogène à température ambiante pendant une nuit. Le milieu réaction est filtré sur célite et concentré. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (par gradient de  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  98 : 2 à 90 : 10) conduisant au composé **36** sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 91% (18 mg, 0.09 mmol).  $R_f$  = 0.18,  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  94 : 6 ;  $R_f$  = 0.43,  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  9 : 1 ; **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 22.8 °C):**  $\delta$  = 4.86 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 1.6 Hz,  $H-1$ ), 3.95 (dd, 1H,  $J_{2,3}$  = 3.3 Hz,  $H-2$ ), 3.83-3.34 (m, 7H,  $H-3$ ,  $H-4$ ,  $H-5$ ,  $H-6a$ ,  $H-6b$  et  $\text{OCH}_2$ ), 1.63 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ), 0.94 ppm (t,  $J_{\text{H,H}}$  = 7.4 Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ) ; **RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  = 99.4 (C-1), 71.3 (C-5), 70.3 (C-3), 69.8 (C-2), 69.6 (C-4), 69.2 ( $\text{OCH}_2$ ), 21.5 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 9.5 (C-6), 5.6 ppm ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ). **ESI $^+$ -HRMS:**  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{IO}_5\text{Na}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  : 355.00129 ; trouvée : 355.00055.

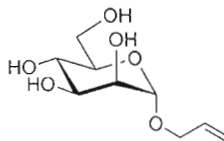
### 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside d'allyle (37)



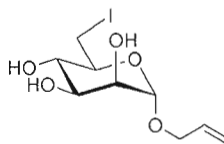
À une solution du D-mannose (7.28 g, 40.00 mmol, 1.00 éq.) dissout dans l'alcool allylique distillé (40 mL), est ajouté une quantité catalytique de résine Amberlite IR-120 ( $H^+$ ). Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 7h ( $R_f = 0.38$ ,  $CH_3CN/H_2O$  9 : 1). La résine  $H^+$  est séparée par filtration. Après évaporation du filtrat, le résidu obtenu est directement engagé dans l'étape suivante sans purification supplémentaire.

Afin de faciliter la purification et l'isolation du D-mannopyranoside d'allyle, le résidu précédent est per-*O*-acétylé en présence d'acétate de sodium 99% (3.65 g, 44.00 mmol, 1.10 éq.) dans l'anhydride acétique à reflux pendant 20 minutes. Le composé est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 2 : 1) conduisant au produit désiré sous la forme d'une solide blanc avec un rendement global sur 2 étapes de 80% (12.43 g, 32.00 mmol). Pf : 53-54 °C ;  $R_f = 0.62$ , hexane/AcOEt 1 : 1 ;  $[\alpha]_D^{24} +50.4$  ( $c=0.26$ ,  $CHCl_3$ )<sup>125</sup> ; **RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ , 25 °C)**:  $\delta = 5.91$ -5.78 (m, 1H,  $OCH_2CHCH_2$ ), 5.34-5.17 (m, 5H, *H*-2, *H*-3, *H*-4 et  $CH=CH_2$ ), 4.82 (d, 1H,  $J_{1,2} = 1.6$  Hz, *H*-1), 4.23 (dd, 1H,  $J_{5,6} = 12.2$  Hz,  $J_{6a,6b} = 5.3$  Hz, *H*-6a), 4.18-4.10 (m, 1H,  $OCH_2$ ), 4.05 (dd, 1H, *H*-6b), 4.02-3.93 (m, 2H, *H*-5 et  $OCH_2$ ), 2.10, 2.05, 1.99, 1.94 ppm (4s, 12H,  $COCH_3$ ) ; **RMN  $^{13}C$  (75 MHz,  $CDCl_3$ )**:  $\delta = 170.4$ , 169.8, 169.6, 169.5 ( $COCH_3$ ), 132.8 ( $CH=CH_2$ ), 118.2 ( $CH=CH_2$ ), 96.4 (*C*-1), 69.4 (*C*-5), 68.9 (*C*-3), 68.4 (*C*-2), 68.4 ( $OCH_2CH=CH_2$ ), 66.0 (*C*-4), 62.3 (*C*-6), 20.7, 20.5, 20.5, 20.5 ppm ( $COCH_3$ ). **ESI $^+$ -MS** :  $m/z$  calcd pour  $C_{17}H_{24}O_{10}Na$  [ $M + Na$ ] $^+$  : 411.12617 ; trouvée : 411.12526.

<sup>125</sup> Martin, A.; Quintanal, L. M.; Suarez, E., *Tetrahedron Lett.*, **2007**, 48, 5507-5511.

**$\alpha$ -D-mannopyranoside d'allyle (38)<sup>126</sup>**

Le composé **37** (3.88 g, 10.00 mmol, 1.00 éq.) est dé-*O*-acétylé selon les conditions zemplén (*Protocole I*), conduisant au composé désiré **38** avec un rendement quantitatif sous la forme d'une poudre blanche (2.20 g, 10.00 mmol). Pf : 98-99 °C<sup>127</sup> ;  $R_f$  = 0.51, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 9 : 1 ;  $[\alpha]_D^{25}$  +116 ( $c$ =1.0, MeOH) (Litt.<sup>128</sup> +99, H<sub>2</sub>O) ; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, D<sub>2</sub>O, 22 °C):  $\delta$  = 6.13-5.84 (m, 1H, CH=CH<sub>2</sub>), 5.10-5.27 (m, 2H, CH=CH<sub>2</sub>), 4.92 (sl, 1H, H-1), 4.28-4.22 et 4.11-4.05 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 3.95-3.66 ppm (m, 6H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6a et H-6b) ; RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, D<sub>2</sub>O + acétone):  $\delta$  = 133.9 (CH=CH<sub>2</sub>), 119.1 (CH=CH<sub>2</sub>), 99.6 (C-1), 73.4 (C-5), 71.2 (C-3), 70.7 (C-2), 68.7 (OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 67.4 (C-4), 61.5 ppm (C-6). ESI<sup>+</sup>-HRMS:  $m/z$  calculée pour C<sub>9</sub>H<sub>16</sub>O<sub>6</sub>Na [M + Na]<sup>+</sup> : 243.08391 ; trouvée : 243.08363.

**6-Deoxy-6-iodo- $\alpha$ -D-mannopyranoside d'allyle (39)**

A une solution portée à reflux du mannoside (2.20 g, 10.00 mmol, 1 équiv.) dans le tétrahydrofurane distillé (THF, 100 mL) sont ajoutés de la triphénylphosphine (4.00 g, 15.00 mmol, 1.5 équiv.) et de l'imidazole (1.36 g, 20.00 mmol, 2 équiv.). Après ajout goutte à goutte d'une solution d'iode (3.928 g, 41.9 mmol, 1.5 équiv.) dans le tétrahydrofurane (2

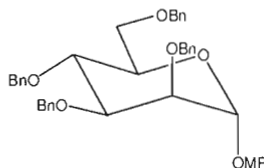
<sup>126</sup> Winnik, F. M.; Carver, J. P.; Krepinsky, J. J., *J. Org. Chem.*, **1982**, 47, 2701-2707.

<sup>127</sup> Boss, R. and Scheffold, R., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1976**, 15, 558.

<sup>128</sup> Talley, E. A.; Vale, M. D. and Yanovsky, E., *J. Am. Chem. Soc.*, **1945**, 67, 2037-2039.

mL), la réaction est maintenue à reflux pendant 2.5 h. L'oxyde de triphénylphosphine formé est filtré, puis le filtrat est évaporé et purifié par chromatographie rapide (chloroforme/méthanol : 97-3) sur gel de silice. Le composé **39** (3.24 g, 9.80 mmol) est obtenu avec un rendement de 98% (3.24 g, 9.80 mmol).  $R_f = 0.25$ ,  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  9 : 1 ;  $[\alpha]_D^{24} +58$  ( $c=1.0$ , MeOH) ; **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 21 °C)**:  $\delta = 5.91\text{-}5.79$  (m, 1H,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.26-5.09 (m, 2H,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.69 (d, 1H,  $J_{1,2} = 1.8$  Hz,  $H-1$ ), 4.25-4.18 et 3.98-3.91 (m, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 3.71 (dd, 1H,  $J_{2,3} = 3.6$  Hz,  $J_{1,2} = 1.8$  Hz,  $H-2$ ), 3.60-3.43 (m, 2H,  $H-3$  et  $H-4$ ), 3.43-3.32 et 3.32-3.11 ppm (m, 3H,  $H-5$ ,  $H-6a$  et  $H-6b$ ) ; **RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )**:  $\delta = 125.7$  ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 108.1 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 91.1 ( $C-1$ ), 64.9 ( $C-5$ ), 63.0 ( $C-3$ ), 62.8 ( $C-2$ ), 62.6 ( $\text{OCH}_2$ ), 59.3 ( $C-4$ ), 3.0 ppm ( $C-6$ ). **ESI $^+$ -HRMS** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{IO}_5\text{Na}$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ] $^+$  : 352.9856 ; trouvée : 352.985

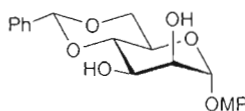
#### 2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl- $\alpha$ -D-mannopyranside de *p*-méthoxyphényle (**40**)



A un mélange d'hydruure de sodium (55 mg, 1.375 mmol, 4 équiv.) dans du diméthylformamide (1.5 ml) à 0°C sous azote est ajouté gouttes à gouttes une solution refroidie à 0°C de  $\alpha$ -D-mannoside de *p*-méthoxyphényle (98.4 mg, 0.346 mmol, 1 équiv.) dans du diméthylformamide (1 ml) sous azote. Le mélange est agité 10 minute à 0°C puis du bromure de benzyle (163  $\mu\text{l}$ , 1.375 mmol, 4 équiv.) est ajouté gouttes à gouttes au mélange. Après 6h d'agitation à température ambiante, le milieu est lavé à l'eau et le produit extrait dans l'acétate d'éthyle, séché sur sulfate de sodium anhydre et concentré. Une purification rapide sur gel de silice (60 ml) permet d'obtenir le produit avec 96% de rendement.  $R_f = 0.90$  (Hexane/Acétate d'éthyle : 1-1) ; **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)**:  $\delta = 7.43\text{-}7.19$  (m, 20H), 6.98 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 6.80 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 5.50 (d, 1H,  $J_{1,2} = 1.9$  Hz,  $H-1$ ), 4.93 (d, 1H,  $J = 10.7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.81 (d, 1H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.80 (d, 1H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.71 (d, 1H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.66 (d, 1H,

$\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.53 (d, 1H,  $J = 9.6$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.48 (d, 1H,  $J = 11.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.14-3.70 (m, 6H), 3.77 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ). **ESI<sup>+</sup>-HRMS**:  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{41}\text{H}_{42}\text{O}_7$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$ : 669.28227 ; trouvée : 669.31.

#### 4,6-O-benzylidène- $\alpha$ -D-mannopyranoside de *p*-methoxyphényle (41)



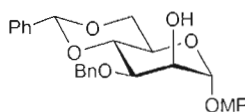
1<sup>ère</sup> méthode : A une solution de  $\alpha$ -D-mannopyranoside de *p*-methoxyphényle (500 mg, 1.74 mmol, 1 équiv.) dans l'acide formique (86%, 3 mL) est ajouté du benzaldéhyde (2.3 mL, 22.70 mmol, 13 équiv.). La solution est agitée à TP pendant quinze minutes puis une solution aqueuse d'hydrogénocarbonate de sodium saturée/hexane (1 : 1 , 90 mL) goutte à goutte sous forte agitation. Le précipité formé est filtré sur Büchner pour fournir le composé pur avec 25% de rendement.

2<sup>ème</sup> méthode : A une solution de  $\alpha$ -D-mannopyranoside de *p*-methoxyphényle (500 mg, 1.74 mmol, 1 équiv.) dans le DMF (30 mL) en présence d'une quantité catalytique d'acide *p*-toluène sulfonique est ajouté du diméthoxybenzaldehyde acétal (2.3 mL, 22.70 mmol, 13 équiv.) à température pièce. Après deux heures d'agitation à reflux, une solution aqueuse d'hydrogénocarbonate de sodium saturée/hexane (1 : 1 , 180 mL) est ajoutée goutte à goutte au mélange refroidi sous forte agitation. Le précipité formé est filtré sur Büchner et lavé à l'hexane pour fournir le composé pur avec 65% de rendement.  $R_f = 0.36$ , hexane/AcOEt 1 : 2 ;  $[\alpha]_D^{24} +123$  ( $c=1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ )<sup>129</sup> ; **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz)**:  $\delta = 7.42\text{-}7.40$  (m, 2H,  $H_{\text{arom}}$ ), 7.30-7.28 (m, 3H,  $H_{\text{arom}}$ ), 6.95-6.92 (m, 2H,  $H_{\text{arom-OMP}}$ ), 6.80-6.76 (m, 2H,  $H_{\text{arom-OMP}}$ ), 5.52 (sl, 1H,  $\text{PhCH}$ ), 5.31 (d, 1H,  $J_{1,2} = 1.6$  Hz,  $H-1$ ), 5.23 (d, 1H,  $J_{H-2,\text{OH}}$ ,  $\text{OH-2}$ ), 5.07 (d, 1H,  $J_{H-3,\text{OH}}$ ,  $\text{OH-3}$ ), 4.07-3.88 (m, 4H,  $H-2$ ,  $H-4$ ,  $H-6a$ ,  $H-6b$ ), 3.81-3.62 (m, 2H,  $H-3$ ,  $H-5$ ), 3.69 ppm (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ) ; **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)**:  $\delta = 154.3$ , 149.5 ( $\text{C}_{\text{q-arom}}$  de

<sup>129</sup> Bodine, K. D.; Gin, D. Y., and Gin, M. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 1638-1639.

OMP), 137.5, ( $C_{q\text{-arom}}$ ), 128.5, 127.6, 126.1 ( $5 \times C_{\text{arom}}$ ), 117.5, 114.1 ( $C_{\text{arom}}$  de OMP), 101.3 (PhCH), 99.7 (C-1), 70.6 (C-5), 67.9 (C-3), 67.2 (C-2), 64.2 (C-4), 64.1 ppm (C-6). **ESI<sup>+</sup>-HRMS**:  $m/z$  calculée pour  $C_{20}H_{23}O_7$   $[M + H]^+$  : 375.14383 ; trouvée : 375.14293 ;  $m/z$  calculée pour  $C_{20}H_{22}O_7Na$   $[M + Na]^+$  : 397.12577 ; trouvée : 397.12479.

### 2-*O*-Benzyl-4,6-*O*-benzylidène- $\alpha$ -D-mannopyranoside de 4-méthoxyphényle (43)

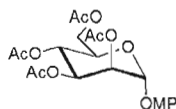


À une solution du benzylidène **41** (450 mg, 1.20 mmol, 1.00 équ.) et d'oxyde de dibutylétain (330 mg, 1.32 mmol, 1.10 équ.) dissous dans du toluène à 65 °C (2h), sont ajouté du bromure de benzyle (159  $\mu$ L, 1.32 mmol, 1.10 équ.) et de l'iodure de tétrabutylammonium (498 mg, 1.32 mmol, 1.10 équ.) Le milieu réactionnel est agité à 65 °C et la réaction est suivie par CCM (hexane/AcOEt 1 : 1) jusqu'à la disparition du réactif **41** dihydroxylé. Après 7h, le milieu réactionnel est filtré puis concentré. Le 3-*O*-benzylé **43** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 1 : 1), conduisant au composé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 66% (370 mg, 0.79 mmol).

$R_f$  = 0.66, hexane/AcOEt 1 : 1 ;  $[\alpha]_D^{25} +56$  ( $c=1.0$ ,  $CHCl_3$ ); **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25 °C)**:  $\delta$  = 7.54-7.50 (m, 2H,  $H_{\text{arom}}$ ), 7.44-7.33 (m, 8H,  $H_{\text{arom}}$ ), 7.00-6.98 (m, 2H,  $H_{\text{arom-OMP}}$ ), 6.87-6.84(m, 2H,  $H_{\text{arom-OMP}}$ ), 5.65 (sl, 1H, PhCH), 5.50 (d, 1H,  $J_{1,2} = 1.6$  Hz, H-1), 4.95 (d, 1H,  $J_{H,H} = 11.8$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.79 (d, 1H,  $J_{H,H} = 11.8$  Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.25-4.11 (m, 4H, H-2, H-3, H-6a, H-6b), 4.05-3.97 (m, 1H, H-5), 3.86 (t, 1H,  $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.1$  Hz, H-4), 3.79 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.89 ppm (d, 1H,  $J_{H-2,OH-2} = 1.4$  Hz, OH-2) ; **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**:  $\delta$  = 155.1, 149.7 ( $C_{q\text{-arom}}$  de OMP), 137.9, 137.4 ( $C_{q\text{-arom}}$ ), 128.5-126.0 ( $10 \times C_{\text{arom}}$ ), 117.7, 114.6 ( $C_{\text{arom}}$  de OMP), 101.6 (PhCH), 98.7 (C-1), 78.7 (C-5), 75.4 (C-3), 73.2 (C-2), 69.9 (C-4), 68.7 (OCH<sub>2</sub>Ph), 63.8 (C-6), 55.6 ppm (OCH<sub>3</sub>). **ESI<sup>+</sup>-MS**:  $m/z$  calculée pour  $C_{27}H_{29}O_7$   $[M + H]^+$  : 465.1 ; trouvée : 465.1.



**2-3-4-6-tétra-*O*-acétyl-  $\alpha$ -D-mannopyranoside de *p*-méthoxyphényle (44)**



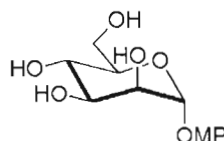
Une solution de D-mannose (7.0 g, 38.8 mmol, 1équiv.) dans de la pyridine distillée (100 mL) est refroidie à 0°C puis de l'anhydride acétique (50 mL) et du diméthylaminopyridine (DMAP) en quantité catalytique sont ajoutés. Après 12 h à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'excès d'anhydride acétique est détruit par addition de méthanol à froid puis la solution est concentrée et co-évacuée plusieurs fois au toluène. Le résidu est repris dans le dichlorométhane, lavé successivement avec des solutions saturées d'hydrogénosulfate de potassium et d'hydrogencarbonate de sodium, à l'eau, et avec une solution saturée de chlorure de sodium, séché sur sulfate de sodium puis concentré. Le mannose peracétylé (15.14 g, 38.8 mmol) obtenu avec un rendement quantitatif avec un ratio  $\alpha/\beta$  : 40-1 est utilisé directement sans purification.  $R_f$  0.27 (hexane/acétate d'éthyle : 3-2) ; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) :  $\delta$  = 6.09 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 1.9 Hz,  $H-1^\alpha$ ), 5.86 (d, 0.025H,  $J_{1,2}$  = 1.1 Hz,  $H-1^\beta$ )

A une solution de mélange anomère de mannose peracétylé (901 mg, 2.31 mmol, 1 équiv.) dans du dichlorométhane distillé (10 mL) est ajouté du *p*-méthoxyphénol (575 mg, 4.62 mmol, 2 équiv.). Le milieu réactionnel est alors refroidi à 0°C puis de l'acide trifluorométhanesulfonique (40  $\mu\text{L}$ , 0.35 mmol, 0.15 équiv.) est additionné. Après 6.5 h à température ambiante, le milieu réactionnel est dilué avec du dichlorométhane, puis lavé successivement avec des solutions saturées d'hydrogencarbonate de sodium et de chlorure de sodium, séché sur sulfate de sodium anhydre puis concentré. Une purification par chromatographie rapide (hexane/acétate d'éthyle : 3-2) sur gel de silice permet d'obtenir le composé **11**<sup>130</sup> (776 mg, 1.71 mmol) avec un rendement de 74%.  $R_f$  0.38 (hexane/acétate d'éthyle : 3-2) ;  $[\alpha]_D = +65$  ( $c$  = 1.0 dans  $\text{CHCl}_3$ ) ; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) :  $\delta$  = 7.04-7.00 et 6.86-6.82 (m, 4H,  $H_{\text{arom.}}$ ), 5.55 (dd, 1H,  $J_{2,3}$  = 3.4 Hz,  $J_{3,4}$  = 10.0 Hz,  $H-3$ ), 5.44 (dd, 1H,  $H-2$ ), 5.41 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 1.9 Hz,  $H-1$ ), 5.35 (t, 1H,  $J_{4,5}$  = 10.0 Hz,  $H-4$ ), 4.29 (dd, 1H,

<sup>130</sup> Mori, M.; Ito, Y.; Ogawa, T. *Tetrahedron Letters* **1989**, 30, 1273-1276.

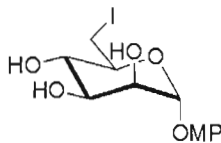
$J_{6a,6b} = 11.7$  Hz,  $J_{5,6a} = 5.2$  Hz,  $H-6a$ ) 4.13 (ddd, 1H,  $H-5$ ), 4.09 (dd, 1H,  $J_{5,6b} = 2.2$  Hz,  $H-6b$ ), 3.77 (s, 3H,  $OCH_3$ ), 2.19, 2.06, 2.05 et 2.03 (4s, 4x3H,  $OCOCH_3$ ); RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 75 MHz) :  $\delta = 170.5$ , 170.0, 169.9 et 169.7 ( $OCOCH_3$ ), 155.4 et 149.6 ( $C_{q\text{ arom.}}$ ) 117.8 et 114.6 ( $C_{\text{arom.}}$ ), 96.6 (C-1), 69.5, 69.0, 68.9, 66.0, 62.2 (C-2, C-3, C-4, C-5, C-6a), 55.6 ( $OCH_3$ ), 20.9-20.7 ( $OCOCH_3$ ). **ESI<sup>+</sup>-MS**:  $m/z$  calculée pour  $C_{21}H_{26}O_{11}$   $[M + Na]^+$  : 477.13673 ; trouvée : 477.13580.

#### $\alpha$ -D-mannopyranoside de *p*-méthoxyphényle (45)



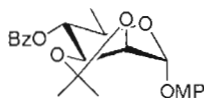
A une solution de composé **44** (12.75 g, 28.1 mmol, 1 équiv.) dans du méthanol (150 mL) refroidie à 0°C, est ajouté du méthanolate de sodium dans le méthanol (1M, 14 mL, 0.5 équiv.). Après 15 minutes à 0°C, la réaction est poursuivie pendant 3 h à température ambiante. La neutralisation du milieu réactionnel est réalisée par ajout de résine Amberlite IR-120, échangeuse d'ions  $H^+$ , puis le mélange est filtré, concentré et lyophilisé. Le composé **45ii** (8.01 g, 28.1 mmol) est obtenu avec un rendement quantitatif.  $R_f$  0.43 (acétonitrile/eau : 95-5) ;  $[\alpha]_D = +116$  ( $c = 1.0$  dans  $CHCl_3$ ) ; RMN  $^1H$  ( $D_2O$ , 300 MHz) :  $\delta = 7.14$ -7.10 et 7.00-6.96 (m, 4H,  $H_{\text{arom.}}$ ), 5.48 (sl, 1H,  $H-1$ ), 4.17 (d, 1H,  $H-2$ ), 4.04-4.01 (m, 1H,  $H-3$ ), 3.81-3.70 (m, 7H,  $H-4$ ,  $H-5$ ,  $H-6a$ ,  $H-6b$  et  $OCH_3$ ) ; RMN  $^{13}C$  ( $D_2O$ , 75 MHz) :  $\delta = 155.3$  et 150.3 ( $C_{q\text{ arom.}}$ ), 119.5 et 115.7 ( $C_{\text{arom.}}$ ), 99.9 (C-1), 74.0, 71.1, 70.6, 67.3 et 61.3 (C-2, C-3, C-4, C-5 et C-6) et 56.4 ( $OCH_3$ ). **ESI<sup>+</sup>-MS**:  $m/z$  calculée pour  $C_{13}H_{18}O_7$   $[M + Na]^+$  : 309.0944 ; trouvée : 309.0142.

**6-deoxy-6-iodo- $\alpha$ -D-mannopyranoside de *p*-méthoxyphényle (46)**



A une solution portée à reflux du composé **45** (8.01 g, 27.9 mmol, 1 équiv.) dans le tétrahydrofurane distillé (THF, 400 mL) sont ajoutés de la triphénylphosphine (11.0 g, 41.9 mmol, 1.5 équiv.) et de l'imidazole (3.81 g, 56.0 mmol, 2 équiv.). Après ajout goutte à goutte d'une solution d'iode (10.66 g, 41.9 mmol, 1.5 équiv.) dans le tétrahydrofurane (2 mL), la réaction est maintenue à reflux pendant 2.5 h. L'oxyde de triphénylphosphine formé est filtré, puis le filtrat est évaporé et purifié par chromatographie rapide (chloroforme/méthanol : 97-3) sur gel de silice. Le composé **46** (9.30 g, 23.5 mmol) est obtenu avec un rendement de 84%.  $R_f$  0.38 (chloroforme/méthanol : 9-1) ;  $[\alpha]_D = +14$  ( $c = 1.0$  dans  $\text{CH}_3\text{OH}$ ) ; **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 300 MHz)** :  $\delta = 7.09\text{-}7.05$  et  $6.87\text{-}6.82$  (m, 4H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 5.33 (d, 1H,  $J_{1,2} = 1.9$  Hz,  $\text{H-1}$ ), 3.99 (dd, 1H,  $J_{2,3} = 3.6$  Hz,  $\text{H-2}$ ), 3.89-3.85 (m, 1H,  $\text{H-3}$ ), 3.75 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.60-3.54 et 3.29-3.27 (m, 4H,  $\text{H-4}$ ,  $\text{H-5}$ ,  $\text{H-6a}$  et  $\text{H-6b}$ ) ; **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 75 MHz)** :  $\delta = 156.6$  et 151.9 ( $\text{C}_{\text{q arom.}}$ ), 119.3 et 115.5 ( $\text{C}_{\text{arom.}}$ ), 101.1 (C-1), 74.6, 72.5, 72.1 et 72.0 (C-2, C-3, C-4 et C-5), 56.0 ( $\text{OCH}_3$ ) et 6.2 (C-6). **ESI $^+$ -MS**:  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{O}_7$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  : 397.01426 ; trouvée : 397.01301.

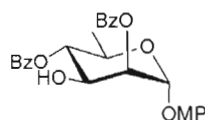
**4-*O*-benzoyl-2,3-di-methylacetal- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (47)**



A une solution de 2,3-di-methoxyacetal- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (0.104 g, 0.335 mmol, 1 équiv.) dissout dans de la pyridine (4 ml), est ajouté le chlorure de benzoyle (1.20 équiv. par OH libre) à température ambiante. Après avoir agités pendant 18h,

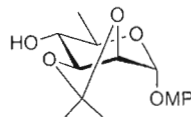
le mélange est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 3 : 1). Le produit **47** est obtenu avec un rendement de 95 %.  $R_f = 0.67$  (Hexane/acétate d'éthyle 3 : 1) ; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) :  $\delta = 8.19\text{--}8.06$  (m, 5H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 7.06–6.85 (m, 4H,  $\text{H}_{\text{arom-OMP}}$ ), 5.68 (d, 1H,  $J_{1,2} = 8.2$  Hz,  $H\text{-}1$ ), 5.20 (dd, 1H,  $J_{2,3} = 9.9$  Hz,  $J_{3,4} = 7.7$  Hz,  $H\text{-}3$ ), 4.52 (dd,  $J_{3,4} = 7.7$  Hz,  $J_{4,5} = 5.5$  Hz,  $H\text{-}4$ ), 4.42 (m, 1H,  $H\text{-}2$ ), 4.08–4.00 (m, 1H,  $H\text{-}5$ ), 3.79 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 1.66 (dd, 3H,  $\text{CH}_3\text{-acétales}$ ), 1.40 (dd, 3H,  $\text{CH}_3\text{-acétales}$ ), 1.19 (dd, 3H,  $\text{CH}_3\text{-rhamnose}$ ). ESI $^+$ -MS:  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_7$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  : 437.15707 ; trouvée : 437.19.

#### 2,4-Di-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (48)



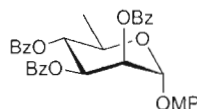
A une solution du composé 2,4-Di-*O*-benzoyl-3-*O*-triisopropylsilyl- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (0.2525 g, 0.3959 mmol, 1 équiv.) dissout dans du tétrahydrofurane (THF) (10 ml), sont ajoutés de l'acide acétique glacial jusqu'à pH 5 (environ 10 gouttes) et par la suite, du Tetra butyl ammonium fluoride (1 M sans THF, 435  $\mu\text{l}$ , 1.10 équiv.) à 0°C. Le mélange est agité pendant 45 minutes à 0°C puis concentré. Le 2,4-Di-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle est purifié par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle 5 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 99 %. Pf : 90–92 °C (AcOEt/EP) ;  $R_f = 0.39$ , EP/AcOEt 4 : 1 ;  $[\alpha]_D^{24} +21$  ( $c=1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ) ; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) :  $\delta = 8.17\text{--}8.09$ , 7.66–7.46 (m, 10H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 7.10–7.04, 6.89–6.85 (m, 4H,  $\text{H}_{\text{arom-OMP}}$ ), 5.60–5.58 (m, 2H,  $H\text{-}1$  et  $H\text{-}2$ ), 5.36 (t, 1H,  $J_{3,4}=J_{4,5} = 9.9$  Hz,  $H\text{-}4$ ), 4.57–4.50 (m, 1H,  $H\text{-}3$ ), 4.29–4.20 (m, 1H,  $H\text{-}5$ ), 3.80 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.61 (d, 1H,  $J_{3,\text{OH}} = 7.4$  Hz,  $\text{OH-}3$ ), 1.33 ppm (d, 3H,  $J_{5,6} = 6.3$  Hz,  $H\text{-}6$ ) ; RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) :  $\delta = 167.0$ , 166.0 (COPh), 155.2, 150.1, ( $\text{C}_{\text{q-arom-OMP}}$ ), 133.6–128.5 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 117.7, 114.6 ( $\text{C}_{\text{arom-OMP}}$ ), 96.5 (C-1), 75.4 (C-3), 73.0 (C-4), 68.8 (C-2), 66.9 (C-5), 55.6 ( $\text{OCH}_3$ ) 17.6 ppm (C-6). ESI $^+$ -MS:  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{O}_8$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  : 501.15199 ; trouvée : 501.1506.

### 2,3-*O*-Isopropylidene- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (49)



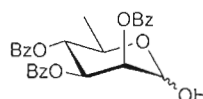
Le rhamnopyranoside **57** (600 mg, 2.22 mmol, 1.00 éq.) et d'acide *p*-toluènesulfonique monohydraté (86 mg, 0.44 mmol, 0.20 éq.) sont dissouts dans un mélange 2,2-diméthoxyprone et acétone (1 : 1 v/v, 9 mL). Après 1h d'agitation à température ambiante, la réaction est stopée par ajout d'une solution aqueuse saturée de NaHCO<sub>3</sub> (4.5 mL). Le produit est extrait avec de l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée de NaCl, séchée, filtrée et concentrée. L'isopropylidène **49** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 2 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 98% (676 mg, 2.18 mmol). Pf : 82-84 °C (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/hexane) ;  $R_f$  = 0.39, hexane/AcOEt 2 : 1 ;  $[\alpha]_D^{24}$  +74 ( $c$ =1.0, CHCl<sub>3</sub>); **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25 °C)**:  $\delta$  = 7.02-6.99, 6.86-6.83 (m, 4H,  $H_{\text{arom}}$ ), 5.61 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 1.6 Hz,  $H$ -1), 4.36 (dd, 1H,  $J_{2,3}$  = 3.3 Hz,  $H$ -2), 4.24 (t, 1H,  $J_{3,4}$  = 9.9 Hz,  $H$ -3), 3.83 (m, 1H,  $H$ -5), 3.78 (sl, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.46 (ddd,  $J_{H-4,OH-4}$  = 4.3 Hz,  $J_{4,5}$  = 7.3 Hz,  $J_{3,4}$  = 9.7 Hz,  $H$ -4), 2.89 (d, 1H,  $J_{H-4,OH-4}$  = 4.3 Hz, OH-4), 1.57, 1.41 (2 x s, 6H, 2 x CH<sub>3</sub>), 1.26 ppm (d, 3H,  $J_{5,6}$  = 6.3 Hz, <sup>6</sup>CH<sub>3</sub>) ; **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**:  $\delta$  = 154.8, 150.0 ( $C_{q\text{-arom}}$ ), 117.6, 114.5 ( $C_{\text{arom}}$ ), 109.6 ( $C_q$ ), 96.1 ( $C$ -1), 78.5 ( $C$ -3), 75.8 ( $C$ -4), 74.4 ( $C$ -2), 66.3 ( $C$ -5), 55.5 (OCH<sub>3</sub>), 27.9, 26.2 [C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>], 17.2 ppm ( $C$ -6). **ESI<sup>+</sup>-HRMS** :  $m/z$  calculée pour C<sub>28</sub>H<sub>30</sub>O<sub>9</sub>Na [M + Na]<sup>+</sup> : 533.17820 ; trouvée : 533.17820.

### 2,3,4-Tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (50)



Le rhamnopyranoside **57** (0.540 g, 2.00 mmol) est benzoylé dans les conditions classiques. Le tri-*O*-benzoate **50** est purifié par chromatographie sur gel de silice (EP/AcOEt 3 : 1), conduisant au benzoate désiré avec un rendement de 99% (1.160 g, 1.99 mmol), sous la forme d'un solide blanc. Pf : 63-65 (CHCl<sub>2</sub>/EP) ;  $R_f$  = 0.51, hexane/AcOEt 3 : 1 ;  $R_f$  = 0.88, CHCl<sub>3</sub>/MeOH 9 : 1 ;  $[\alpha]_D^{24}$  -62 ( $c$ =1.0, CHCl<sub>3</sub>)<sup>131</sup> ; **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 22 °C)**:  $\delta$  = 8.14-7.25 (15H, m,  $H_{\text{arom}}$ ), 7.14-7.11, 6.89-6.86 (4H, m,  $H_{\text{arom-OMP}}$ ), 6.05 (1H, dd,  $J_{3,4}$  = 10.0 Hz,  $H$ -3), 5.85 (1H, dd,  $J_{2,3}$  = 3.2 Hz,  $H$ -2), 5.76 (1H, t,  $J_{4,5}$  = 10.0 Hz,  $H$ -4), 5.63 (1H, d,  $J_{1,2}$  = 1.6 Hz,  $H$ -1), 4.40-4.31 (1H, m,  $H$ -5), 3.79 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 1.36 (3H, d,  $J_{5,6}$  = 6.2 Hz,  $H$ -6) ; **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**:  $\delta$  = 165.7, 165.6, 165.5 (COPh), 155.2, 150.1 (C<sub>q-arom-OMP</sub>), 133.5-128.3 (C<sub>arom</sub>), 117.7, 114.7 (C<sub>arom</sub>), 96.6 (C-1), 71.7 (C-3), 70.7 (C-4), 69.8 (C-2), 67.3 (C-5), 55.6 (OCH<sub>3</sub>), 17.7 (C-6) ; **ESI<sup>+</sup>-HRMS** :  $m/z$  calculée pour C<sub>34</sub>H<sub>31</sub>O<sub>9</sub> [M + H]<sup>+</sup> : 583.19626 ; trouvée : 583.20356.

### 2,3,4-Tri-*O*-benzoyl-D-rhamnopyranose (**51**)

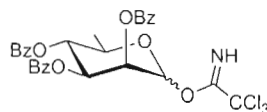


À une solution du *p*-méthoxyphényle **50** (0.890 g, 1.53 mmol, 1.00 éq.) dissout dans un mélange de toluène/CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (1 : 14 : 1 v/v/v, 24 mL), est ajouté du nitrate de cerium IV ammoniacal (CAN, 8.370 g, 15.3 mmol, 10.00 éq.). Après 12h de réaction à température ambiante, le mélange est concentré. Le résidu est dissout dans du dichlorométhane, lavé avec des solutions aqueuses saturées en NaCl, de NaHCO<sub>3</sub> et à l'eau. La phase organique est séchée, filtrée et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 3 : 1) conduisant au composé hémiacétal **51** désiré sous la forme d'un solide légèrement jaunâtre avec un rendement de 99% (720 mg, 1.52 mmol). Pf : 204-206 °C (EP/AcOEt) ;  $R_f$  = 0.26, hexane/AcOEt 3 : 1 ;  $[\alpha]_D^{24}$  -20 ( $c$ =1.0, CHCl<sub>3</sub>) ; **RMN <sup>1</sup>H**

<sup>131</sup> Valeur remesuré, corrigé sur l'erreur de publication : *Org. Biomol. Chem.*, 2007, 5, 2704-2708 : +62 ( $c$ =1.0, CHCl<sub>3</sub>).

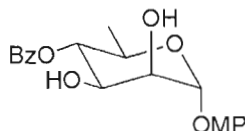
(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25 °C):  $\delta$  = 8.12-7.23 (15H, m,  $H_{\text{arom}}$ ), 5.94 (dd, 1H,  $J_{2,3}$  = 3.4 et  $J_{3,4}$  = 10.2 Hz,  $H$ -3), 5.73–5.67 (m, 2H,  $H$ -2 et  $H$ -4), 5.47 (dd, 1H,  $J_{1,2}$  = 1.6 et  $J_{H-1,OH}$  = 4.0 Hz,  $H$ -1), 4.52–4.42 (m, 1H,  $H$ -5), 3.71 (d, 1H,  $OH$ -1), 1.37 (2d, 3H,  $J_{5-6}$  = 6.3 Hz,  $H$ -6 $_{\alpha}$  et  $\beta$ ); **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 165.8, 165.7, 165.6 (COPh), 133.5-128.2 ( $C_{\text{arom}}$ ), 92.2 (C-1), 71.9 (C-3), 71.3 (C-4), 69.7 (C-2), 66.7 (C-5), 17.7 (C-6). **ESI<sup>+</sup>-MS :**  $m/z$  calculée pour C<sub>27</sub>H<sub>24</sub>O<sub>8</sub>Na [M + Na]<sup>+</sup> : 499.14 ; trouvée : 499.14.

### 2,2,2-trichloroacétimide de 2,3,4-tri-*O*-benzoyl-D-rhamnopyranosyle (52)



L'hémiacétal **51** (318 mg, 0.66 mmol, 1.00 éq.) est converti en donneur imide **52** dans les conditions déjà décrites. L'imide rhamnopyranosyle **52** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 3 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 97% (397 mg, 0.64 mmol).  $R_f$  = 0.46, hex/AcOEt 3 : 1 ; **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25 °C):**  $\delta$  = 8.83 (1H, s, NH), 8.13-7.25 (m, 15H,  $H_{\text{arom}}$ ), 6.50 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 1.4 Hz,  $H$ -1) 5.93-5.88 (m, 2H,  $H$ -2 et  $H$ -3), 5.79 (t, 1H,  $J_{1,2}$  =  $J_{1,2}$  = 9.9 Hz,  $H$ -4), 4.46-4.37 (m, 1H,  $H$ -5), 1.43 (d, 3H,  $J_{1,2}$  = 6.3 Hz,  $H$ -6) ; **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  = 165.6, 165.4, 165.2 (COPh), 160.0 (CNH), 133.6, 133.4, 133.2 ( $C_{q\text{-arom}}$ ), 129.9-128.3 ( $C_{\text{arom}}$ ), 94.7 (C-1), 90.7 ( $C_q$  de CCl<sub>3</sub>), 71.0 (C-3), 69.6 (C-4), 69.6 (C-2), 69.0 (C-5), 17.7 ppm (C-6). **ESI<sup>+</sup>-MS :**  $m/z$  calculée pour C<sub>29</sub>H<sub>24</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>8</sub>Na [M + Na]<sup>+</sup> : 642.05 ; trouvée : 642.05.

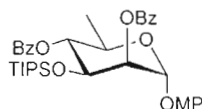
**4-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de *p*-methoxyphényle (53)**



Du 2,3-isopropylidène- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de *p*-methoxyphényle (100mg, 0.322 mmol) subit une benzylation classique (pyridine (3mL), chlorure de benzoyle (165  $\mu$ L, 0.354 mmol, 1.1 équiv.).

Le 4-*O*-benzoyl-2,3-isopropylidène- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de *p*-methoxyphényle (104 mg, 0.25 mmol) est solubilisé dans un mélange acide trifluoroacétique/eau (9-1, 2.5 mL). Après trois minutes, le milieu est concentré et coévaporé plusieurs fois avec un mélange acétone/cyclohexane. Le composé (83 mg, 0.23 mmol) est obtenu sans purification avec 90% de rendement. **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)** :  $\delta$  = 8.17-8.09, 7.66-7.46 (m, 5H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 7.10-7.04, 6.89-6.85 (m, 4H,  $\text{H}_{\text{arom-OMP}}$ ), 5.59 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 1.6 Hz,  $\text{H-1}$ ), 5.36 (t, 1H,  $J_{3,4}=J_{4,5}$  = 9.9 Hz,  $\text{H-4}$ ), 4.57-4.50 (m, 2H,  $\text{H-2}$  et  $\text{H-3}$ ), 4.29-4.20 (m, 1H,  $\text{H-5}$ ), 3.80 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.61 (d, 1H,  $J_{3,\text{OH}}$  = 7.4 Hz,  $\text{OH-3}$ ), 2.44 (d, 1H,  $J_{2,\text{OH}}$  = 7.2 Hz,  $\text{OH-2}$ ), 1.33 ppm (d, 3H,  $J_{5,6}$  = 6.3 Hz,  $\text{H-6}$ ) ; **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)** :  $\delta$  = 167.0, 166.0 ( $\text{COPh}$ ), 155.2, 150.1, ( $\text{C}_{\text{q-arom-OMP}}$ ), 133.6-128.5 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 117.7, 114.6 ( $\text{C}_{\text{arom-OMP}}$ ), 96.5 ( $\text{C-1}$ ), 75.4 ( $\text{C-3}$ ), 73.0 ( $\text{C-4}$ ), 68.8 ( $\text{C-2}$ ), 66.9 ( $\text{C-5}$ ), 55.6 ( $\text{OCH}_3$ ) 17.6 ppm ( $\text{C-6}$ ).

**2,4-Di-*O*-benzoyl-3-*O*-triisopropylsilyl- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (55)**

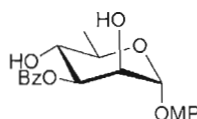


À la solution du rhamnopyranoside **57** (108 mg, 0.40 mmol, 1.00 équ.) dissout dans du dichlorométhane distillé (30 mL), sont ajoutés de la 2,6-lutidine 99% (76  $\mu$ L, 0.64 mmol, 1.6 équ.) et du triisopropylsilyle trifluorométhanesulfonate (TIPSOTf, 97%) (118  $\mu$ L, 0.42 mmol,



1.05 éq.) sous atmosphère inerte à 0 °C. Le milieu réactionnel est agité à 0 °C pendant 4h, puis versé dans l'eau glacée, lavée avec des solutions aqueuses saturées de NaHCO<sub>3</sub>, NaCl. Les phases organiques sont séchées, filtrées et concentrées. L'intermédiaire diol non isolé est ensuite benzoylé dans les conditions classiques (chlorure de benzoyle (1.20 éq. par OH libre) dans de la pyridine distillée). Le composé **55** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 30 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 93% (236 mg, 0.37 mmol).  $R_f = 0.45$ , hex/AcOEt 3 : 1 ;  $[\alpha]_D^{25} -1$  ( $c=1.0$ , CHCl<sub>3</sub>) ; **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25 °C)**:  $\delta$  = 8.18-8.15, 8.10-8.01 (m, 4H, m,  $H_{\text{arom}}$ ), 7.62-7.44 (m, 6H  $H_{\text{arom}}$ ), 7.07-7.04, 6.87-6.84 (m, 4H,  $H_{\text{arom}}$ ), 5.60 (1H, t,  $J_{4,5} = 10.0$  Hz,  $H-4$ ), 5.56 (1H, d,  $J_{1,2} = 1.6$  Hz,  $H-1$ ), 5.51 (1H, dd,  $J_{2,3} = 3.2$  Hz,  $H-2$ ), 4.79 (1H, dd,  $J_{3,4} = 10.0$  Hz,  $H-3$ ), 4.17-4.01 (1H, m,  $H-5$ ), 3.79 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 1.27 (3H, d,  $J_{5,6} = 6.2$  Hz,  $H-6$ ), 0.94 ppm (d, 18H, CH<sub>3</sub>-TIPS) ; **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**:  $\delta$  = 166.2, 165.8 (COPh), 155.1, 150.3 ( $C_{\text{q-OMP}}$ ), 133.3, 133.1 ( $C_{\text{q-arom}}$ ), 130.0-128.3 ( $C_{\text{arom}}$ ), 117.7, 114.6 ( $C_{\text{arom}}$ ), 96.6 (C-1), 74.8 (C-3), 73.5 (C-4), 68.8 (C-2), 67.6 (C-5), 55.6 (OCH<sub>3</sub>), 17.8 (CH<sub>3</sub>-TIPS), 17.7 (C-6), 12.5 ppm (CH<sub>2</sub>-TIPS). **ESI<sup>+</sup>-MS** :  $m/z$  calculée pour C<sub>36</sub>H<sub>46</sub>O<sub>8</sub>SiNa [M + Na]<sup>+</sup> : 657.28542 ; trouvée : 657.28538.

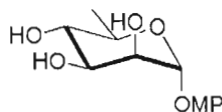
### 3-O-benzoyl- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de *p*-methoxyphényle (**56**)



Du D-rhamnopyranoside de *p*-méthoxyphényle (200 mg, 0.74 mmol) dans du toluène (8 mL) est placé à reflux dans un montage de type Dean-Stark en présence de diméthoxyde de dibutylétain (187  $\mu$ L, 0.81 mmol, 1.1 équiv.) pendant deux heures. Du chlorure de benzoyle (171  $\mu$ L, 1.48 mmol, 2 équiv.) est ajouté à chaud. Après quatre heures de réaction, le précipité blanc observé est filtré sur Büchner puis le produit est obtenu avec 75% de rendement. **RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz)** :  $\delta$  = 8.12-8.09, 7.63-7.57, 7.49-7.44, 7.05-7.00 et 6.87-6.83 (m, 9H,  $H_{\text{arom}}$ ), 5.50 (dd, 1H,  $J_{2,3} = 3.3$  Hz et  $J_{3,4} = 9.3$  Hz,  $H-3$ ), 5.42 (d, 1H,  $J_{1,2} = 1.9$  Hz,  $H-1$ ), 4.35 (sl, 1H,  $H-2$ ), 3.97-3.88 (m, 2H,  $H-4$  et  $H-5$ ), 3.77 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.53 (sl,

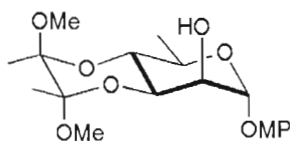
2H, OH-4 et OH-2) et 1.35 (d, 3H,  $J_{5,\text{CH}_3} = 5.76$  Hz, CH<sub>3</sub>) ; RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) :  $\delta =$  161.1 (C<sub>q,arom.</sub>), 153.6 et 151.1 (C<sub>q-OMP</sub>), 132.8, 130.5, 129.7, 128.4, 115.2, 114.7 (C<sub>arom.</sub>), 99.5 (C-1), 74.1, 73.0, 70.1, 69.2 (C-2, C-3, C-4, C-5), 56.4 (OCH<sub>3</sub>), 17.6 (CH<sub>3</sub>).

**$\alpha$ -D-rhamnopyranoside de *p*-méthoxyphényle (57)**



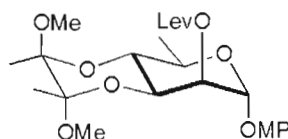
A une solution portée à reflux de composé iodé (8.10 g, 20.4 mmol, 1 équiv.) dans du toluène distillé (200 mL), sont ajoutés de l'hydruure de tributylétain (8.1 mL, 30.7 mmol, 1.5 équiv.) et du 2,2'-azo-bis-isobutyronitrile (AIBN - 670 mg, 4.1 mmol, 0.2 équiv.). Après 1 h à reflux, le milieu réactionnel est concentré. Une purification chromatographique sur gel de silice (chloroforme/méthanol : 95-5) permet l'obtention du rhamnoside **57** (4.99 g, 18.5 mmol) avec un rendement de 90%.  $R_f$  0.68 (acétonitrile/eau : 9-1) ;  $[\alpha]_D = +96$  ( $c = 1.0$  dans CH<sub>3</sub>OH) ; RMN <sup>1</sup>H (D<sub>2</sub>O, 300 MHz) :  $\delta = 7.13$ -7.07 et 7.00-6.96 (m, 4H, H<sub>arom.</sub>), 5.42 (d, 1H,  $J_{1,2} = 1.9$  Hz, H-1), 4.16 (dd, 1H,  $J_{2,3} = 3.3$  Hz, H-2), 3.97 (dd, 1H,  $J_{3,4} = 9.6$  Hz, H-3), 3.90-3.81 (m, 1H, H-5), 3.81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.51 (t, 1H,  $J_{4,5} = 9.6$  Hz, H-4) et 1.23 (d, 3H,  $J_{5,6} = 6.3$  Hz, H-6) ; RMN <sup>13</sup>C (D<sub>2</sub>O, 75 MHz) :  $\delta = 155.4$  et 150.1 (C<sub>q arom.</sub>), 119.6 et 115.8 (C<sub>arom.</sub>), 99.9 (C-1), 72.7, 70.8, 70.7 et 70.0 (C-2, C-3, C-4 et C-5), 56.4 (OCH<sub>3</sub>) et 17.2 (C-6). ESI<sup>+</sup>-MS :  $m/z$  calculée pour C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>Na [M + Na]<sup>+</sup> : 293.0995 ; trouvée : 293.0987.

**3,4-*O*-(2',3'-diméthoxybutane-2',3'-diyl)- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de *p*-méthoxyphényle (58)**



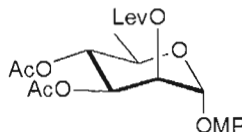
Après solubilisation du composé **57** (129 mg, 0.47 mmol, 1 équiv.) dans du méthanol sec (5 mL), de la 2,3-butadione (45  $\mu$ L, 0.52 mmol, 1.1 équiv.), du triméthylorthoformiate (206  $\mu$ L, 1.88 mmol, 0.8 équiv.), ainsi que, goutte à goutte, de l'étherate de trifluorure de bore (47  $\mu$ L, 0.37 mmol, 0.8 équiv.) sont ajoutés. Après 20 h à température ambiante, l'acide est neutralisé par ajout de triéthylamine, et le mélange évaporé puis purifié par chromatographie rapide sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle : 3-1). Le composé **58** (150 mg, 0.39 mmol) est alors obtenu sous la forme de quatre diastéréoisomères avec un rendement global de 83%.  $R_f$  0.72 (chloroforme/méthanol : 96-4) ; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) du diastéréoisomère majoritaire :  $\delta$  = 7.00-6.96 et 6.85-6.81 (m, 4H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 5.42 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 1.5 Hz,  $\text{H-1}$ ), 4.16 (dd, 1H,  $J_{2,3}$  = 3.3 Hz et  $J_{3,4}$  = 10.0 Hz,  $\text{H-3}$ ), 4.12 (sl, 1H,  $\text{H-2}$ ), 4.01-3.92 (m, 1H,  $\text{H-5}$ ), 3.79 (t, 1H,  $J_{4,5}$  = 10.0 Hz,  $\text{H-4}$ ), 3.78 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.34 et 3.26 (2s, 2x3H,  $[\text{C}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3]_2$ ), 2.61 (d, 1H,  $J_{\text{OH},2}$  = 2.2 Hz,  $\text{OH-2}$ ), 1.34 et 1.33 (2s, 2x3H,  $[\text{C}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3]_2$ ) et 1.24 (d, 3H,  $J_{5,6}$  = 6.3 Hz,  $\text{H-6}$ ) ; RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) du diastéréoisomère majoritaire :  $\delta$  = 154.9 et 150.1 ( $\text{C}_{\text{q arom.}}$ ), 117.7 et 114.6 ( $\text{C}_{\text{arom.}}$ ), 100.3 et 99.9 ( $\text{C}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3]_2$ ), 98.6 (C-1), 69.8, 68.3, 68.0 et 67.2 (C-2, C-3, C-4, C-5), 55.6 ( $\text{OCH}_3$ ), 48.1 et 47.7 ( $[\text{C}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3]_2$ ), 17.8, 17.7 et 16.5 ( $[\text{C}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3]_2$  et C-6). ESI $^+$ -MS :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_8$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  : 407.1676 ; trouvée : 407.1674.

**3,4-*O*-(2',3'-diméthoxybutane-2',3'-diyl)-2-*O*-levulinyI- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de *p*-méthoxyphényle (59)**



A une solution de composé **58** (460 mg, 1.20 mmol, 1 équiv.) dans du dichlorométhane distillé (12 mL) sont ajoutés successivement de la diméthylaminopyridine (87.7  $\mu$ L, 0.72 mmol, 0.6 équiv.), de l'acide lévulynique (700  $\mu$ L, 6.70 mmol, 5.6 équiv.) et du diisopropylcarbodiimide (1.25 mL, 7.90 mmol, 6.6 équiv.). Après 5 h à température ambiante, le mélange réactionnel est filtré sur couche de silice/célite, lavé à l'eau et concentré. Une purification par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle : 3-1) conduit au mélange de diastéréoisomères **59** avec un rendement de 98%.  $R_f$  0.17 (hexane/acétate d'éthyle : 3-1);  $[\alpha]_D = +155$  ( $c = 1.0$  dans  $\text{CHCl}_3$ ); **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) du diastéréoisomère majoritaire** :  $\delta = 6.97$ -6.93 et 6.83-6.80 (m, 4H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 5.33 (d, 1H,  $J_{1,2} = 1.9$  Hz,  $\text{H-1}$ ), 5.23 (dd, 1H,  $J_{2,3} = 3.0$  Hz,  $\text{H-2}$ ), 4.26 (dd, 1H,  $J_{3,4} = 10.2$  Hz,  $\text{H-3}$ ), 4.02-3.96 (m, 1H,  $\text{H-5}$ ), 3.78 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.72 (t, 1H,  $J_{4,5} = 10.2$  Hz,  $\text{H-4}$ ), 3.31 et 3.28 (2s, 2x3H,  $[\text{C}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3]_2$ ), 2.84-2.70 (m, 4H,  $(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$ ), 2.22 (s, 3H,  $(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$ ), 1.31 et 1.30 (2s, 2x3H,  $[\text{C}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3]_2$ ), 1.25 (d, 3H,  $J_{5,6} = 5.8$  Hz, C-6); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) du diastéréoisomère majoritaire** :  $\delta = 206.3$  ( $(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$ ), 172.1 ( $\text{OCO}(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$ ), 155.0 et 150.0 ( $\text{C}_{\text{q arom.}}$ ), 117.8 et 114.5 ( $\text{C}_{\text{arom.}}$ ), 100.0 et 99.8 ( $[\text{C}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3]_2$ ), 96.9 (C-1), 70.7, 68.7, 67.3 et 65.9 (C-2, C-3, C-4, C-5), 55.6 ( $\text{OCH}_3$ ), 48.1 et 47.6 ( $[\text{C}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3]_2$ ), 38.1, 29.7, et 28.3 ( $(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$ ), 17.8, 17.7 et 16.5 ( $[\text{C}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3]_2$  et C-6). **ESI $^+$ -MS** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_{10}$   $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$  : 500.24903 ; trouvée : 500.2520.

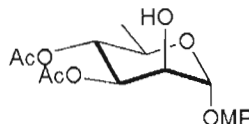
**3,4-di-*O*-acétyl-2-*O*-lévulinyl- $\alpha$ -D-rhamnopyrannoside de *p*-méthoxyphényle (60)**



Le composé **59** (440 mg, 0.91 mmol, 1 équiv.) est solubilisé dans un mélange acide trifluoroacétique/eau (9-1, 10 mL). Après 3 minutes, le milieu est concentré et co-évaporé plusieurs fois avec un mélange acétone/cyclohexane.

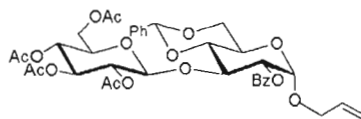
Une fois le résidu repris dans de la pyridine distillée (10 mL), la solution est refroidie à 0°C puis du chlorure d'acétyle (155  $\mu$ L, 2.19 mmol, 2.4 équiv.) est ajouté goutte à goutte. La réaction est poursuivie à température ambiante pendant 12 h puis l'excès d'acide est neutralisé par ajout de méthanol froid (10 mL). Après concentration et co-évaporation au toluène, le résidu est dilué dans du dichlorométhane, lavé successivement avec des solutions saturées d'hydrogénosulfate de potassium, d'hydrogénocarbonate de sodium, d'eau et une solution saturée de chlorure de sodium, séché sur sulfate de sodium anhydre puis concentré. Le composé **60** est alors obtenu suite à une chromatographie rapide sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle : 2-1) avec un rendement de 75%.  $R_f$  0.29 (éther de pétrole/hexane/acétate d'éthyle : 3-3-4) ;  $[\alpha]_D = +55$  ( $c = 1.0$  dans  $\text{CHCl}_3$ ) ; **RMN  $^1\text{H}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , **300 MHz**) :  $\delta = 7.03$ - $6.97$  et  $6.85$ - $6.80$  (m, 4H,  $H_{\text{arom.}}$ ), 5.50 (dd, 1H,  $J_{2,3} = 3.4$  Hz et  $J_{3,4} = 10.1$  Hz,  $H$ -3), 5.43 (dd, 1H,  $H$ -2), 5.33 (d, 1H,  $J_{1,2} = 1.6$  Hz,  $H$ -1), 5.12 (t, 1H,  $J_{4,5} = 10.1$  Hz,  $H$ -4), 4.16-3.97 (m, 1H,  $H$ -5), 3.77 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.82-2.68 (m, 4H,  $(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$ ), 2.21 (s, 3H,  $(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$ ), 2.06 et 2.03 (2s, 2x3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 1.20 (d, 3H,  $J_{5,6} = 5.8$  Hz,  $H$ -6) ; **RMN  $^{13}\text{C}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , **75 MHz**) :  $\delta = 206.0$  ( $(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$ ), 171.7 ( $\text{OCO}(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$ ), 170.1 et 169.9 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 155.2 et 149.9 ( $\text{C}_{\text{q arom.}}$ ), 117.6 et 114.6 ( $\text{C}_{\text{arom.}}$ ), 96.3 (C-1), 71.0, 69.9, 68.9 et 66.9 (C-2, C-3, C-4 et C-5), 55.6 ( $\text{OCH}_3$ ), 37.8, 29.7 et 27.9 ( $(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$ ), 20.8 et 20.7 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 17.4 (C-6). **ESI $^+$ -MS** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_{10}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  : 475.15747 ; trouvée : 475.1646.

**3,4-di-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-rhamnospyranoside de *p*-méthoxyphényle (61)**



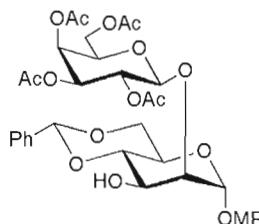
A une solution de composé **60** (289 mg, 0.64 mmol, 1 équiv.) dans un mélange pyridine/acide acétique (1-1, 8 mL) est ajouté de l'hydrate d'hydrazine (24  $\mu$ L, 0.77 mmol, 1.2 équiv.). Après 20 minutes à température ambiante, le milieu réactionnel est dilué avec du dichlorométhane puis lavé successivement avec de l'eau glacée, des solutions saturées d'hydrogénosulfate de potassium et d'hydrogénocarbonate de sodium, séché sur sulfate de sodium anhydre puis concentré. Le composé **61** (206 mg, 0.58 mmol) est obtenu par chromatographie rapide sur gel de silice (éther de pétrole/hexane/acétate d'éthyle : 3-3-4) avec un rendement de 91%.  $R_f$  0.29 (éther de pétrole/hexane/acétate d'éthyle : 3-3-4) ;  $[\alpha]_D = +113$  ( $c = 1.0$  dans  $\text{CHCl}_3$ ) ; **RMN  $^1\text{H}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , **300 MHz**) :  $\delta = 7.02$ - $6.98$  et  $6.86$ - $6.80$  (m, 4H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ),  $5.44$ - $5.30$  (m, 2H,  $H-1$  et  $H-3$ ),  $5.17$  (t, 1H,  $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.2$  Hz,  $H-4$ ),  $4.24$  (sl, 1H,  $H-2$ ),  $4.02$ - $3.96$  (m, 1H,  $H-5$ ),  $3.77$  (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ),  $2.67$  (d, 1H,  $J_{\text{OH},2} = 4.4$  Hz,  $\text{OH}-2$ ),  $2.11$  et  $2.05$  (2s,  $2 \times 3\text{H}$ ,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ) et  $1.19$  (d, 3H,  $J_{5,6} = 6.3$  Hz,  $H-6$ ) ; **RMN  $^{13}\text{C}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , **75 MHz**) :  $\delta = 170.2$  et  $170.1$  ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ),  $155.0$  et  $150.0$  ( $\text{C}_{\text{q arom.}}$ ),  $117.4$  et  $114.6$  ( $\text{C}_{\text{arom.}}$ ),  $98.0$  (C-1),  $71.5$ ,  $71.2$ ,  $69.4$  et  $66.7$  (C-2, C-3, C-4 et C-5),  $55.6$  ( $\text{OCH}_3$ ),  $20.9$  et  $20.8$  ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ) et  $17.4$  (C-6). **ESI $^+$ -MS** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_8$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  : 377.1203 ; trouvée : 377.1206.

**2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidène- $\alpha$ -D-glucopyranoside d'allyle (**62**).**



Le mélange d'anomères **20** (222 mg, 0.45 mmol, 1.5 équiv.) et de composé **2** (124 mg, 0.30 mmol, 1 équiv.) est dissous dans le dichlorométhane anhydre (10 mL). Après 1 h d'agitation sous azote en présence de tamis moléculaire 4 Å, le mélange est refroidi à 0°C et du triméthylsilyl trifluorométhanesulfonate (27  $\mu$ L, 0.15 mmol, 0.5 équiv.) est ajouté. Après 1 h à 0°C et 1 h à température ambiante, le milieu réactionnel est neutralisé par ajout de triéthylamine (0.1 mL), filtré sur célite et concentré. Une purification par chromatographie rapide sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle : 2-1) permet d'obtenir le disaccharide **62** (116 mg, 0.18 mmol) avec un rendement de 70%.  $R_f$  0.33 (hexane/acétate d'éthyle : 3-2);  $[\alpha]_D = +39$  ( $c = 1.0$  dans  $\text{CHCl}_3$ ); **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)** :  $\delta = 8.09$ -8.05, 7.66-7.60, 7.53-7.48 et 7.36-7.32 (m, 10H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 5.88-5.75 (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 5.60 (s, 1H, PhCH), 5.29-5.22 (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 5.18-5.10 (m, 3H,  $\text{H-1}^I$ ,  $\text{H-2}^I$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 5.06-4.99 (m, 3H,  $\text{H-2}^{II}$ ,  $\text{H-3}^{II}$  et  $\text{H-4}^{II}$ ), 4.77 (d, 1H,  $J_{1,2} = 7.4$  Hz,  $\text{H-1}^{II}$ ), 4.41 (t, 1H,  $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.3$  Hz,  $\text{H-3}^I$ ), 4.28 (dd, 1H,  $J_{5,6a} = 4.4$  et  $J_{6a,6b} = 9.9$  Hz,  $\text{H-6a}^I$ ), 4.22-4.15 (m, 2H,  $\text{H-6a}^{II}$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 4.03-3.94 (m, 3H,  $\text{H-5}^I$ ,  $\text{H-6b}^{II}$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 3.81 (t, 1H,  $J_{5,6b} = 10.4$  Hz,  $\text{H-6b}^I$ ), 3.75 (t, 1H,  $J_{4,5} = 9.3$  Hz,  $\text{H-4}^I$ ), 3.63-3.59 (m, 1H,  $\text{H-5}^{II}$ ), 1.98, 1.97, 1.90 et 1.56 (4s, 4x3H,  $\text{OCOCH}_3$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)** :  $\delta = 170.7$ , 170.2, 169.3 et 169.1 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 165.7 ( $\text{OCOPh}$ ), 137.2-126.0 ( $\text{C}_{\text{arom.}}$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 118.1 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 101.1 et 100.8 (PhCH et  $\text{C-1}^{II}$ ), 95.8 ( $\text{C-1}^I$ ), 79.2, 76.5, 73.3, 72.9, 71.5, 71.0, 68.8, 68.7, 68.2, 62.7 et 61.9 ( $\text{C-2}^I$  et  $^{II}$ ,  $\text{C-3}^I$  et  $^{II}$ ,  $\text{C-4}^I$  et  $^{II}$ ,  $\text{C-5}^I$  et  $^{II}$ ,  $\text{C-6}^I$  et  $^{II}$  et  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 20.6, 20.5, 20.4 et 19.9 ( $\text{OCOCH}_3$ ). **ESI $^+$ -MS** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{36}\text{H}_{46}\text{O}_8\text{SiNa}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  : 765.4 ; trouvée : 765.4.

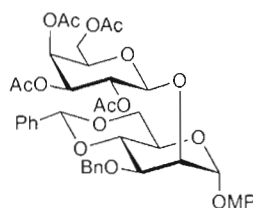
**2,3,4,6-tetra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-4,6-*O*-benzylidène- $\alpha$ -D-mannopyranoside de *p*-méthoxyphényle (63)**



Du composé **29** (296 mg, 0.60 mmol, 1.5 équiv.) et du composé **41** (150 mg, 0.40 mmol, 1 équiv.) sont dissous dans le dichlorométhane distillé (5 mL). Après 1 h d'agitation sous azote en présence de tamis moléculaire 4 Å, le mélange est refroidi à 0°C et du triméthylsilyl trifluorométhanesulfonate (43 µL, 0.23 mmol, 0.6 équiv.) est ajouté. Après 1 h à 0°C et 1 h à température ambiante, le milieu réactionnel est neutralisé par ajout de triéthylamine, filtré sur célite et concentré. Une purification par chromatographie rapide sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle : 2-1) permet d'obtenir le disaccharide **63** (44 mg, 0.07 mmol) avec un rendement global de 17%.  $R_f$  0.21 (hexane/acétate d'éthyle : 3-2). ; **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 25 °C):  $\delta$  = 7.50-7.28 (m, 10H,  $H_{\text{arom-Bn}}$ ), 6.96-6.93, 6.86-6.83 (m, 4H,  $H_{\text{arom-OMP}}$ ), 5.63 (s, 1H,  $\text{CHPh}$ ), 5.43-5.37 (m, 2H,  $H-2^{\text{II}}$ ,  $H-4^{\text{II}}$ ), 5.35 (d, 1H,  $J_{1,2} = 1.4$  Hz,  $H-1^{\text{I}}$ ), 5.04 (dd, 1H,  $J_{2,3} = 3.4$  Hz et  $J_{3,4} = 10.6$  Hz,  $H-3^{\text{II}}$ ), 4.81 (s, 2H,  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 4.58 (d, 1H,  $J_{1,2} = 8.0$  Hz,  $H-1^{\text{II}}$ ), 4.29 (m, 1H,  $H-5^{\text{II}}$ ), 4.21-4.15 (m, 5H,  $H-2^{\text{I}}$ ,  $H-3^{\text{I}}$ ,  $H-6a^{\text{I}}$ ,  $H-6b^{\text{I}}$ ,  $H-6a^{\text{II}}$ ), 3.94 (m, 2H,  $H-4^{\text{I}}$ ,  $H-6b^{\text{II}}$ ), 3.79 (s, 4H,  $\text{OCH}_3$ ,  $H-6b^{\text{II}}$ ), 2.16, 2.07, 2.03, 2.01 ppm (4s, 12H,  $\text{COCH}_3$ ) ; **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  = 170.4, 170.3, 170.1, 169.1 ( $\text{COCH}_3$ ), 155.2, 149.7 ( $\text{C}_{\text{q-OMP}}$ ), 138.3, 137.5 ( $\text{C}_{\text{q-arom}}$ ), 128.8-126.0 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 117.6, 114.7 ( $\text{C}_{\text{arom-OMP}}$ ), 101.4 ( $\text{CHPh}$ ), 101.0 ( $\text{C}-1^{\text{II}}$ ), 97.4 ( $\text{C}-1^{\text{I}}$ ), 78.0 ( $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 76.6 ( $\text{C}-2^{\text{I}}$ ), 74.0 ( $\text{C}-4^{\text{I}}$ ), 72.1 ( $\text{C}-3^{\text{I}}$ ), 71.0 ( $\text{C}-3^{\text{II}}$ ), 70.6 ( $\text{C}-5^{\text{II}}$ ), 68.4 ( $\text{C}-2^{\text{II}}$ ), 66.8 ( $\text{C}-5^{\text{I}}$ ), 64.8 ( $\text{C}-4^{\text{II}}$ ), 61.4 ( $\text{C}-6^{\text{II}}$ ), 55.6 ( $\text{OCH}_3$ ), 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 ppm ( $\text{COCH}_3$ ). **ESI $^+$ -MS** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{34}\text{H}_{41}\text{O}_{16}$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$  : 704.3 ; trouvée : 704.4

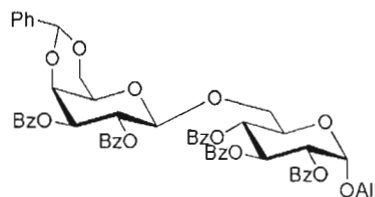


**2,3,4,6-Tétra-*O*-acétyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-3-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidène- $\alpha$ -D-mannopyranoside de 4-méthoxyphényle (**64**)**



Une suspension de trichloroacétimide **29** (636 mg, 1.29 mmol, 3.00 éq.), d'accepteur **43** (200 mg, 0.43 mmol, 1.00 éq.) et de tamis moléculaire 4Å fraîchement activé, dans du dichlorométhane distillé (4 mL), est agitée pendant 1h sous atmosphère d'azote à -50 °C. Une solution de TMSOTf (94  $\mu$ L, 0.52 mmol, 1.20 éq.) dans du dichlorométhane distillé (800  $\mu$ L) est ensuite additionnée. Après 2h d'agitation à -50 °C et 4h à température ambiante, le mélange est neutralisé par l'addition de la triéthylamine (72  $\mu$ L, 0.52 mmol, 1.20 éq.), filtré sur Célite et concentré. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/EtOAc, 4 : 1, v/v), conduisant au disaccharide **64**, produit principal désiré, sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 48% (164 mg, 0.20 mmol).  $R_f$  = 0.53 (hexane/AcOEt, 1 : 1, v/v) ;  $[\alpha]_D^{26}$  +54 ( $c$ =0.5, CHCl<sub>3</sub>) ; **RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25 °C)**:  $\delta$  = 7.50-7.28 (m, 10H,  $H_{\text{arom-Bn}}$ ), 6.96-6.93, 6.86-6.83 (m, 4H,  $H_{\text{arom-OMP}}$ ), 5.63 (s, 1H, CHPh), 5.43-5.37 (m, 2H,  $H$ -2<sup>II</sup>,  $H$ -4<sup>II</sup>), 5.35 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 1.4 Hz,  $H$ -1<sup>I</sup>), 5.04 (dd, 1H,  $J_{2,3}$  = 3.4 Hz et  $J_{3,4}$  = 10.6 Hz,  $H$ -3<sup>II</sup>), 4.81 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.58 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 8.0 Hz,  $H$ -1<sup>II</sup>), 4.29 (m, 1H,  $H$ -5<sup>II</sup>), 4.21-4.15 (m, 5H,  $H$ -2<sup>I</sup>,  $H$ -3<sup>I</sup>,  $H$ -6a<sup>I</sup>,  $H$ -6b<sup>I</sup>,  $H$ -6a<sup>II</sup>), 3.94 (m, 2H,  $H$ -4<sup>I</sup>,  $H$ -6b<sup>II</sup>), 3.79 (s, 4H, OCH<sub>3</sub>,  $H$ -6b<sup>II</sup>), 2.16, 2.07, 2.03, 2.01 ppm (4s, 12H, COCH<sub>3</sub>) ; **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** :  $\delta$  = 170.4, 170.3, 170.1, 169.1 (COCH<sub>3</sub>), 155.2, 149.7 ( $C_{\text{q-OMP}}$ ), 138.3, 137.5 ( $C_{\text{q-arom}}$ ), 128.8-126.0 ( $C_{\text{arom}}$ ), 117.6, 114.7 ( $C_{\text{arom-OMP}}$ ), 101.4 (CHPh), 101.0 ( $C$ -1<sup>II</sup>), 97.4 ( $C$ -1<sup>I</sup>), 78.0 (OCH<sub>2</sub>Ph), 76.6 ( $C$ -2<sup>I</sup>), 74.0 ( $C$ -4<sup>I</sup>), 72.1 ( $C$ -3<sup>I</sup>), 71.0 ( $C$ -3<sup>II</sup>), 70.6 ( $C$ -5<sup>II</sup>), 68.4 ( $C$ -2<sup>II</sup>), 66.8 ( $C$ -5<sup>I</sup>), 64.8 ( $C$ -4<sup>II</sup>), 61.4 ( $C$ -6<sup>II</sup>), 55.6 (OCH<sub>3</sub>), 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 ppm (COCH<sub>3</sub>). **ESI<sup>+</sup>-MS** :  $m/z$  calculée pour C<sub>41</sub>H<sub>47</sub>O<sub>16</sub> [M + H]<sup>+</sup> : 795.3 ; trouvée : 795.3.

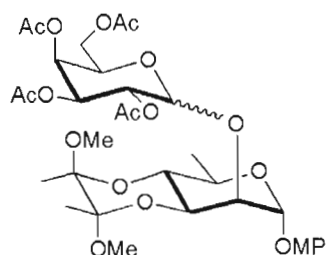
**2,3-di-O-benzoyl-4,6-O-benzylidène-β-D-galactopyranosyl-(1→6)-2,3,4-tri-O-benzoyl-α-D-mannopyranoside d'allyle (65)**



En condition strictement anhydre, le thiophényle galactoside donneur (160 mg, 0.28 mmol, 1.5 équiv.) et le mannoside accepteur (100 mg, 0.19 mmol, 1 équiv.) sont dissous dans du DCM (3mL) en présence de tamis moléculaire 4Å. Après refroidissement à 0°C, le NIS (66 mg, 0.28 mmol, 1.5 équiv.) et l'acide trifluorométhanesulfonique (17 µL, 0.19 mmol, 1 équiv.). La réaction est poursuivie pendant une heure à température ambiante, puis le mélange dilué dans du dichlorométhane, neutralisé avec de la triéthylamine (0.1 mL), filtré sur célite et concentré. Une purification sur gel de silice flash (hexane/acétate d'éthyle : 3-1) permet d'obtenir le disaccharide d'anométrie β (80 mg, 0.086 mmol) avec 45% de rendement.

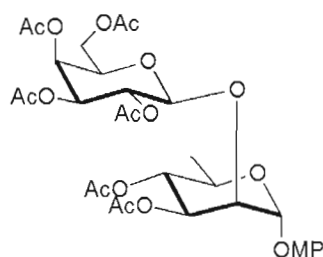
**RMN <sup>1</sup>H de l'anomère β-D (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) :** δ = 8.07-8.04, 7.65-7.26 (m, 30H, H<sub>arom.</sub>), 6.06 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 5.98 (s, 1H, H-7), 5.54 (sl, 1H, H-1<sup>M</sup>), 5.42-5.25 (m, 3H, H-3<sup>M</sup>, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 4.98 (m, 2H, H-2<sup>M</sup> et H-3<sup>G</sup>), 4.96 (d, 1H, J<sub>1,2</sub> = 8.2 Hz, H-1<sup>G</sup>), 4.65-4.62 (m, 2H, H-4<sup>G</sup> et H-4<sup>M</sup>), 4.51-4.36 (m, 1H, H-5<sup>M</sup>), 4.10-4.04 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 3.93-3.85 (m, 2H, H-6a<sup>G</sup> et H-6b<sup>G</sup>), 3.42-3.36 (m, 2H, H-5, H-6a<sup>M</sup> et H-6b<sup>M</sup>). **ESI<sup>+</sup>-MS :** m/z calculée pour C<sub>57</sub>H<sub>50</sub>O<sub>16</sub> [M + NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> : 975.31 ; trouvée : 975.14.

**2,3,4,6-tetra-*O*-acétyl-D-galactopyranosyl-(1→2)-3,4-(2',3'-diméthoxybutane-2',3'-diyl)- $\alpha$ -D-rhamnopyrannoside de *p*-méthoxyphényle (66)**



Du composé **29a** (185 mg, 0.38 mmol, 1.5 équiv.) et du composé **58** (96 mg, 0.25 mmol, 1 équiv.) sont dissous dans le dichlorométhane distillé (10 mL). Après 1 h d'agitation sous azote en présence de tamis moléculaire 4 Å, le mélange est refroidi à 0°C et du triméthylsilyl trifluorométhanesulfonate (23 µL, 0.13 mmol, 0.5 équiv.) est ajouté. Après 1 h à 0°C et 1 h à température ambiante, le milieu réactionnel est neutralisé par ajout de triéthylamine, filtré sur célite et concentré. Une purification par chromatographie rapide sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle : 3-1) permet d'obtenir les quatre diastéréoisomères disaccharidiques **66** en mélange anomère (76 mg, 0.11 mmol) avec un rendement global de 43%.  $R_f$  0.18 (hexane/acétate d'éthyle : 3-2).

**2,3,4,6-tetra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-3,4-di-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de *p*-méthoxyphényle (67a) et 2,3,4,6-tetra-*O*-acétyl- $\beta$ -D-galactopyranoside-(1 $\rightarrow$ 2)-3,4-di-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de *p*-méthoxyphényle (67b)**

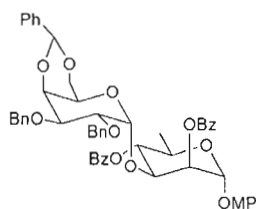


Le mélange de diastéréoisomères **66** (76 mg, 0.10 mmol, 1 équiv.) est solubilisé dans un mélange acide trifluoroacétique/eau (9-1, 10 mL). Après 3 minutes, le milieu est concentré et coévaporé trois fois avec un mélange acétone/cyclohexane.

Le résidu est repris dans de la pyridine distillée (2 mL) puis la solution refroidie à 0°C. Suite à l'ajout d'anhydride acétique (1 mL) et de diméthylaminopyridine en quantité catalytique, la réaction est poursuivie à température ambiante pendant 12 h à l'abri de la lumière puis l'excès d'anhydride est neutralisé par ajout de méthanol froid. Après évaporation, le résidu dilué avec du dichlorométhane est lavé successivement avec des solutions saturées d'hydrogénosulfate de potassium, d'hydrogénocarbonate de sodium, de l'eau et une solution saturée de chlorure de sodium, séché sur sulfate de sodium anhydre puis concentré. Le composé **67a** (12 mg, 0.02 mmol) et le composé **67b** (38 mg, 0.06 mmol), sont obtenus suite à une chromatographie rapide sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle : 2-1) avec des rendements respectifs de 17 et 54%.  $R_f$  0.23 (hexane/acétate d'éthyle : 3-2) ;  $[\alpha]_D = +19$  ( $c = 1.0$  dans  $\text{CHCl}_3$ ) ; **RMN  $^1\text{H}$  de l'anomère  $\beta$ -D ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)** :  $\delta = 7.02$ -6.86 et 6.85-6.83 (m, 4H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 5.37 (dd, 1H,  $J_{3,4} = 3.6$  Hz et  $J_{4,5} = 1.1$  Hz,  $\text{H-4}^{\text{II}}$ ), 5.28 (dd, 1H,  $J_{2,3} = 10.5$  Hz,  $\text{H-2}^{\text{II}}$ ), 5.23-5.20 (m, 2H,  $\text{H-1}^{\text{I}}$  et  $\text{H-3}^{\text{I}}$ ), 5.12 (t, 1H,  $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.7$  Hz,  $\text{H-4}^{\text{I}}$ ), 4.98 (dd, 1H,  $\text{H-3}^{\text{II}}$ ), 4.43 (d, 1H,  $J_{1,2} = 8.0$  Hz,  $\text{H-1}^{\text{II}}$ ), 4.33 (dd, 1H,  $J_{1,2} = 1.4$  Hz et  $J_{2,3} = 3.3$  Hz,  $\text{H-2}^{\text{I}}$ ), 4.10-4.07 (m, 2H,  $\text{H-6a}^{\text{II}}$  et  $\text{H-6b}^{\text{II}}$ ), 3.91-3.85 (m, 2H,  $\text{H-5}^{\text{I}}$  et  $\text{H-5}^{\text{II}}$ ), 3.78 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.20, 2.08, 2.06, 2.05, 2.03 et 1.99 (6s, 6x3H,  $\text{COCH}_3$ ), 1.15 (d, 3H,  $J_{5,6} = 6.0$  Hz,  $\text{H-6}^{\text{I}}$ ) ; **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)** :  $\delta = 170.6$ , 170.4, 170.3, 170.1, 169.6, 169.0 ( $\text{COCH}_3$ ),

155.2 et 150.1 ( $C_{q\text{ arom.}}$ ), 117.5, 114.7 ( $C_{\text{arom.}}$ ), 100.8 ( $C-1^{\text{II}}$ ), 96.5 ( $C-1^{\text{I}}$ ), 75.1, 70.9, 70.6, 70.5, 70.1, 68.3, 67.1, 67.0 et 61.3 ( $C-2^{\text{I et II}}$ ,  $C-3^{\text{I et II}}$ ,  $C-4^{\text{I et II}}$ ,  $C-5^{\text{I et II}}$ ,  $C-6^{\text{II}}$ ), 55.6 ( $\text{OCH}_3$ ), 20.9, 20.8, 20.7, 20.7, 20.6, 20.5 ( $\text{COCH}_3$ ) et 17.5 ( $C-6$ ). **ESI<sup>+</sup>-HRMS** :  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{O}_{17}\text{Na}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  : 707.21577 ; trouvée : 707.21000.

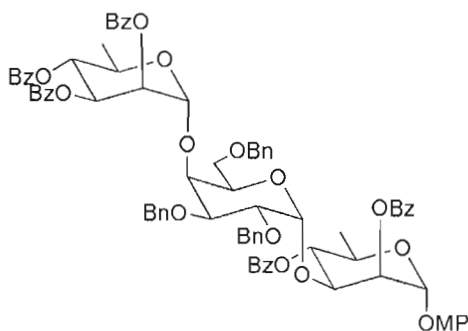
**2,3-di-*O*-benzyl-4,6-benzylidène- $\alpha$ -D-galactopyranosyl-(1-3)-2,4-di-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (68)**



A une solution de 2,4-di-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de p-méthoxyphényle sec (74mg, 0.154 mmol, 1équiv.), de 4,6-*O*-benzylidène-2,3-di-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside de thiophényle (100 mg, 0.185 mmol, 1.2 équiv.), de NIS (54.7 mg, 0.231 mmol, 1.5 équiv.) en présence de tamis moléculaire 4A activé, dissoute dans du dichlorométhane (2 ml), est ajouté à -80°C et sous azote de l'acide trifluorométhane sulfonique (13.9  $\mu\text{l}$ , 0.154 mmol, 1équiv.). Après avoir agité 30 minutes à -80°C, puis 30 minutes à -40°C, puis 30 minutes à -20 °C, la température est maintenue ambiante. Après 2h d'agitation, le tamis est filtré sur Büchner avec de la célite, puis le milieu réactionnel est lavé par des solutions saturées en hydrogénocarbonate de sodium, puis séché sur sulfate de sodium, et concentré. Après purification par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 4 : 1), l'anomère  $\alpha$  du disaccharide 22 est obtenu avec un rendement de 71 %.  $R_f$  = 0.13 (Hexane/acétate d'éthyle 4 : 1) ; **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)** :  $\delta$  = 8.18-7.55, 7.53-7.27, 7.26-7.19, 7.11-6.87 (m, 29H,  $H_{\text{arom}}$ ), 5.71-5.63 (m, 2H,  $H-4$  et  $H-2$ ), 5.57 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 1.6 Hz,  $H-1$ ), 5.33 (s, 1H,  $H-7'$ ), 5.14 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 3.3 Hz,  $H-1'$ ), 4.56 (dd, 1H,  $J_{2,3}$  = 9.9 Hz,  $J_{3,4}$  = 3.3 Hz,  $H-3$ ), 4.46 (dd, 2H,  $\text{CH}_2\text{-benzyle}$ ), 4.34-4.24 (m, 3H,  $H-5$  et  $\text{CH}_2\text{-benzyle}$ ), 4.14 (dd, 1H,  $H-3'$ ), 4.00-3.83 (m, 3H,  $H-2'$   $H-4'$  et  $H-5'$ ), 3.78 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.61 (t, 2H,  $H-6a'$  et  $H-6b'$ ), 1.35 (d, 3H,  $\text{CH}_3\text{-rhamnose}$ ) ; **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)** :  $\delta$  = 165.6 (CO),

155.2 et 150.1 ( $C_{\text{qarom.}}$ ), 138.6-114.6 ( $C_{\text{arom.}}$ ), 99.8 et 96.5 ( $C-1^G$  et  $C-1^R$ ), 75.8-63.6 ( $C-2^R-C-6^R$  et  $C-2^G-C-6^G$ ), 55.6 ( $OCH_3$ ) et 17.6 ( $CH_3^R$ ). **ESI<sup>+</sup>-MS** :  $m/z$  calculée pour  $C_{54}H_{52}O_{13}$  [ $M + H$ ]<sup>+</sup> : 931.33 ; trouvée : 931.26.

**2,3,6-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-rhamnopyranosyl-(1-4)-2,3,6-tri-*O*-benzyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl-(1-3)-2,4-di-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphenyle (70)**



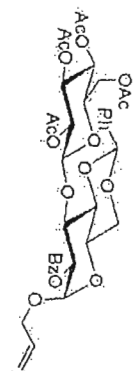
Une solution sous azote de 2,3-di-*O*-benzyl-4,6-benzylidène- $\alpha$ -D-galactopyranosyl-(1-3)-2,4-di-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphenyle dans du dichlorométhane (600  $\mu$ L) en présence de tamis moléculaire activé 4A est agitée à TP pendant une heure puis refroidie à  $-80^{\circ}\text{C}$ . Du triéthylsilane (28  $\mu$ L, 0.052 mmol, 3.2 équiv.) puis de l'acide trifluorosulfonique (12  $\mu$ L, 0.159 mmol, 2.9 équiv.) sont ajoutés. Le mélange est ensuite agité à  $-80^{\circ}\text{C}$  pendant 1 heure puis neutralisé à cette température par addition de triéthylamine (100  $\mu$ L) et de méthanol (100  $\mu$ L). Le mélange est dilué dans du chloroforme, filtré sur célite, lavé avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium, séchée sur sulfate de sodium anhydre et concentré.

Le résidu disaccharidique (60 mg, 0.066 mmol, 1.0 équiv.), en présence de 2,2,2-trichloroacétimide de 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ - $\beta$ -D-rhamnopyranose (61 mg, 0.099 mmol, 1.5 équiv.), est mis en solution dans du dichlorométhane (1 mL) en présence de tamis moléculaire activé 4A sous atmosphère inerte. La solution est agitée 20 minutes à TP puis refroidie à  $-80^{\circ}\text{C}$ . Du triméthylsilyltrifluorométhane sulfonate (6  $\mu$ L, 0.033 mmol, 0.5 équiv.)

est alors ajouté et la température du milieu stabilisée à  $-40^{\circ}\text{C}$  puis  $-20^{\circ}\text{C}$  pendant 2 fois 30 minutes avant de remonter progressivement à TP. Le milieu est ensuite neutralisé par ajout de triéthylamine (15  $\mu\text{L}$ ), filtré sur célite puis concentré. Une purification sur silice flash permet d'obtenir le trisaccharide (67mg) avec un rendement de 74%. **RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $25^{\circ}\text{C}$ ):**  $\delta$  = 8.21-7.83, 7.63-7.31, 7.25-6.88 et 6.74 (m, 44H,  $\text{H}_{\text{arom.}}$ ), 6.39 (sl, 1H,  $\text{H-1}^{\text{R}2}$ ), 5.72-5.56 (m, 5H,  $\text{H-2}^{\text{R}1}$ ,  $\text{H-3}^{\text{R}1}$ ,  $\text{H-2}^{\text{R}2}$ ,  $\text{H-4}^{\text{R}1}$ ,  $\text{H-4}^{\text{R}2}$ ), 5.16 (d, 1H,  $\text{H-1}^{\text{R}1}$ ), 5.05 (sl, 1H,  $\text{H-1}^{\text{G}}$ ), 4.61-4.38 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.30-4.26 (m, 2H,  $\text{H-5}^{\text{R}1}$  et  $\text{H-5}^{\text{R}2}$ ), 4.21-4.10 (m, 3H,  $\text{H-3}^{\text{G}}$ ,  $\text{H-3}^{\text{R}2}$ ,  $\text{H-5}^{\text{G}}$ ), 3.94-3.91 (dd, 1H,  $\text{H-2}^{\text{G}}$ ), 3.85-3.82 (m, 4H,  $\text{H-6a}$  et  $\text{OCH}_3$ ), 3.65 (t, 1H,  $\text{H-4}^{\text{G}}$ ), 3.41 (dd, 1H,  $\text{H-6b}$ ), 1.34 (d, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 0.95 (d, 3H,  $\text{CH}_3$ ) ; **RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $25^{\circ}\text{C}$ ):** 165.9, 165.8, 165.6, 165.5 et 165.4 ( $\text{COPh}$ ), 155.2 et 150.2 ( $\text{C}_{\text{qarom.}}$ ), 138.5-114.6 ( $\text{C}_{\text{arom.}}$ ), 99.3, 98.2, 96.5 ( $\text{C-1}$ ), 77.6-66.6 ( $\text{C-2-C-5}^{\text{R}1}$ ,  $\text{C-2-C-5}^{\text{R}2}$ ,  $\text{C-2-C-6}^{\text{G}}$  et  $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 55.6 ( $\text{OCH}_3$ ), 17.7 et 17.2 ( $\text{CH}_3$ ). **ESI $^+$ -MS :**  $m/z$  calculée pour  $\text{C}_{81}\text{H}_{76}\text{O}_{20}$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  : 1391.48 ; trouvée : 1391.29

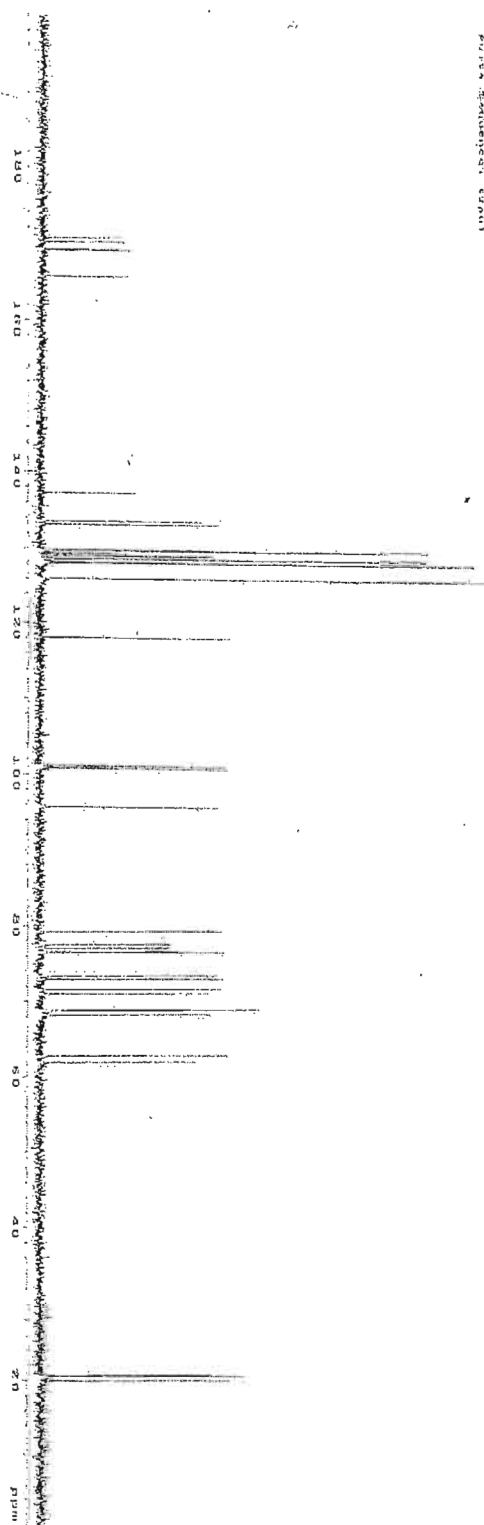
## ANNEXES





501.4 - 501.2  
 100.0 - 100.0  
 100.0 - 100.0

ppm

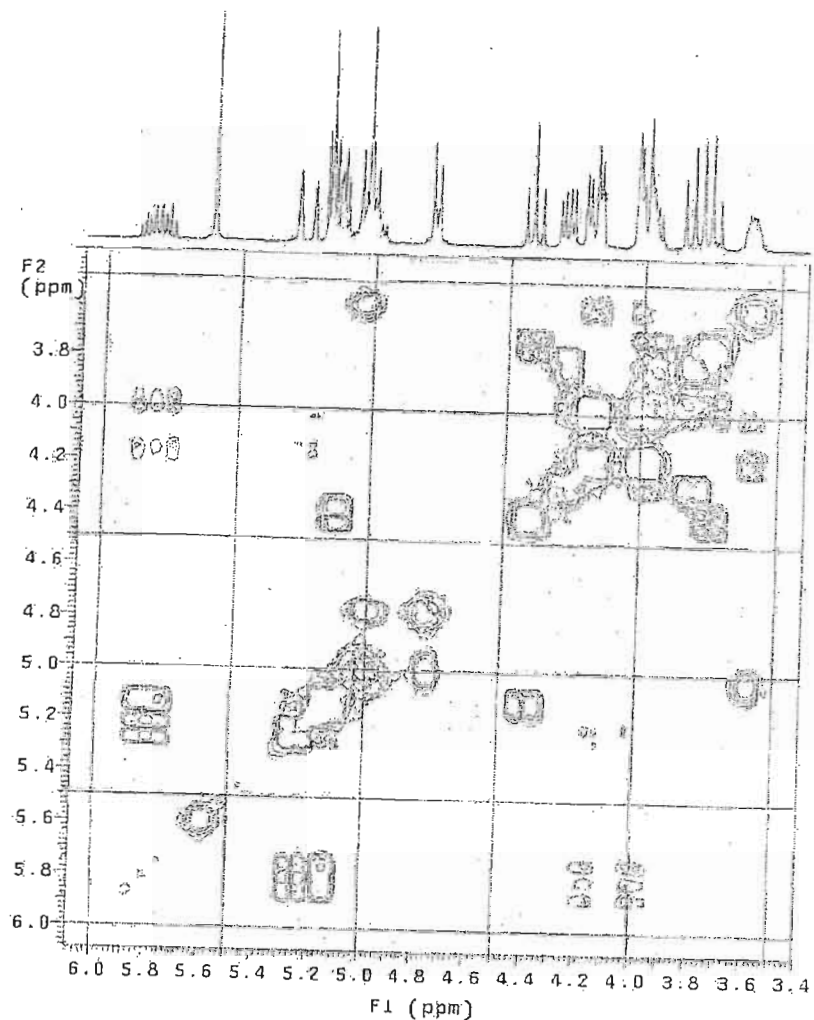


Spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  du composé 62

SD14 - CDC13

exp3. relayh

SAMPLE DEC. 8 VT  
 Date: Apr 4 2006 dfrq 300.069  
 solvent CDC13 dn M1  
 file /export/home/~ dpwr 30  
 regis/FRI23-COSY.f~ dof 0  
 id dm nnn  
 ACQUISITION dmme c  
 sfrq 300.069 dnf 200  
 tn M1  
 nt 0.159 sb PROCESSING  
 np 1024 sbs 0.079  
 sw 3220.5 wfile not used  
 tb 1800 proc ft  
 bs 15 fn 1024  
 ss 2  
 tgyr 60 werr  
 dv 14.8 wexp wft  
 pl 14.8 wbs  
 gl 1.000 wnt  
 cor -201.3 2D PROCESSING  
 nt 4 sbl 0.040  
 ct 4 sbbl not used  
 tau 0 wfile1  
 relay 0 procl ft  
 alock n fnl 1024  
 gain 10  
 FLAGS  
 ii n  
 in n  
 dp y  
 2D ACQUISITION  
 swl 3220.5  
 nt 256  
 phase 0  
 DISPLAY  
 sb 1020.1  
 wp 806.7  
 vs 180  
 sc 15  
 wc 116  
 hzaw -6.97  
 ls 500.00  
 rfl 397.9  
 rfg 0  
 th 2  
 lrs 100.000  
 ai cdc av  
 2D DISPLAY  
 spl 1020.1  
 ypl 806.7  
 se2 0  
 wc2 116  
 rfl1 397.9  
 rfg1 0



## STANDARD 1H OBSERVE

exp5 relayh

SAMPLE DEC. & VT  
 date May 3 2007 dfrq 300.069  
 solvent CDCl3 dn H1  
 file /export/home/~ dpwr 30  
 sonia/SD64-COSY.f1~ dof 0  
 d dm nnn

ACQUISITION  
 sfrq 300.069 dmm c  
 dmf 200

PROCESSING  
 tn H1 sb 0.078  
 at 0.156 sb not used  
 np 1024 sbs  
 sw 3290.9 wtfile  
 fb 1800 proc ft  
 bs 16 fn 1024

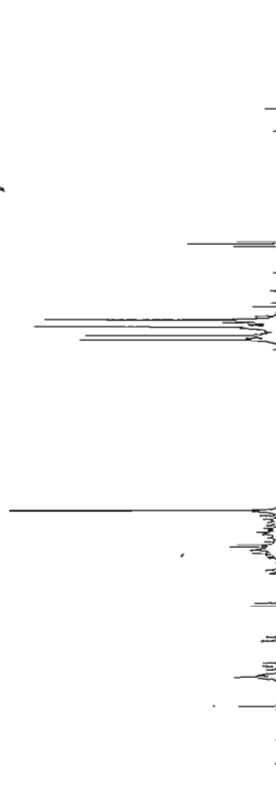
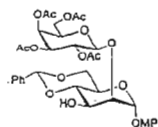
ss 2  
 tpwr 60 werr  
 pw 14.0 wexp wft  
 pl 14.0 wbs  
 dl 1.000 wnt  
 tof -147.7 20 PROCESSING  
 nt 4 sb1 0.039  
 ct 4 sbs1 not used  
 tau 0 wtfile1  
 relay 0 procl ft  
 alock n fnl 1024  
 gain 14

FLAGS  
 il n  
 in n  
 dp y

2D ACQUISITION  
 sw1 3290.9  
 ni 256  
 phase 0

DISPLAY  
 sp -282.8  
 wp 2266.9  
 vs 200  
 sc 10  
 wc 116  
 hzmm 19.58  
 is 500.00  
 rfl 289.2  
 rfp 0  
 th 2  
 ins 100.000

ai cdc av  
 2D DISPLAY  
 sp1 -282.8  
 wp1 2254.1  
 sc2 0  
 wc2 116  
 rfl1 289.2  
 rfp1 0



F2 (ppm)

-0

1

2

3

4

5

6

F1 (ppm)

6

5

4

3

2

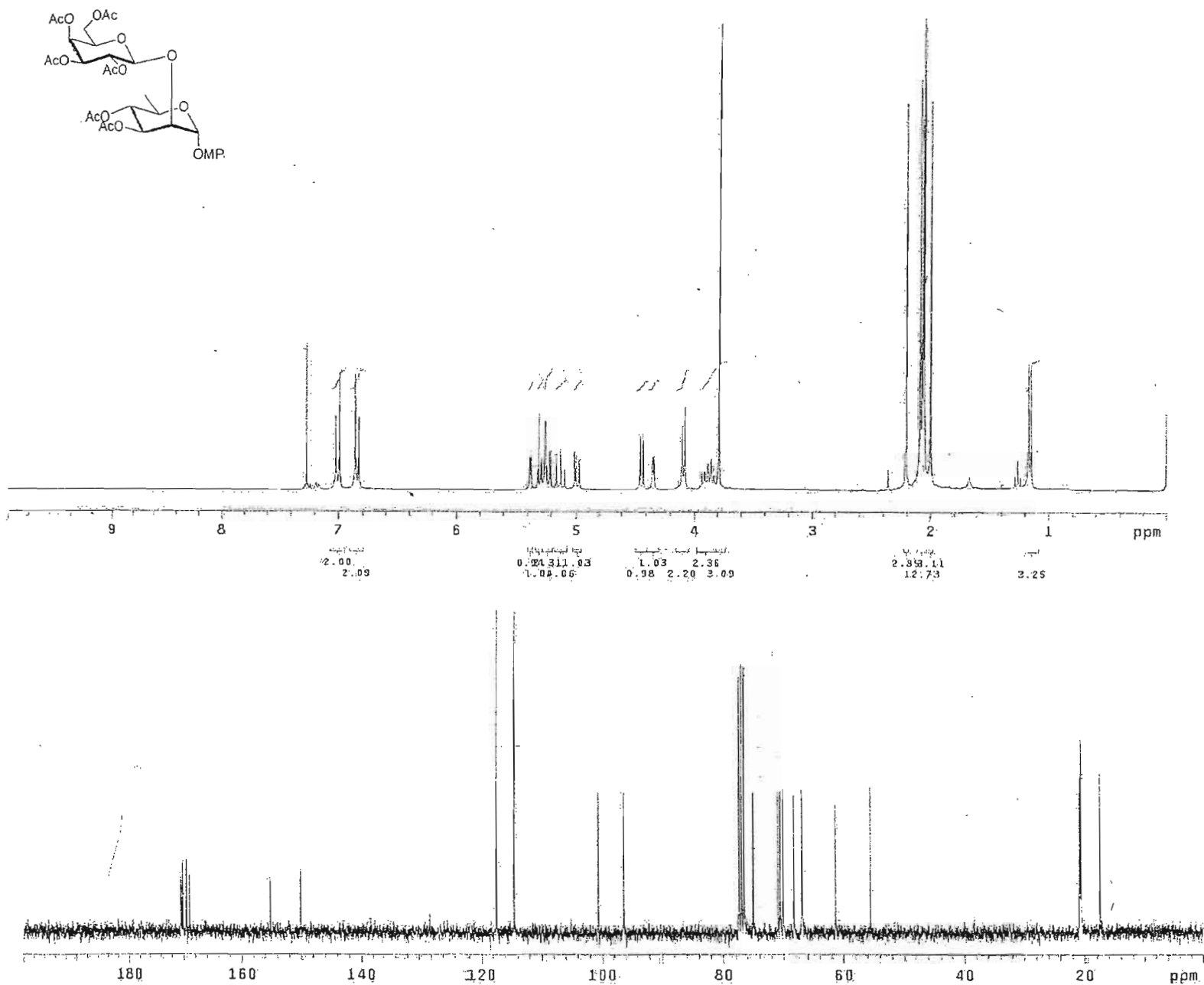
1

-0

Spectre COSY du composé 63



Spectre RMN  $^1\text{H}$ . du composé **63**

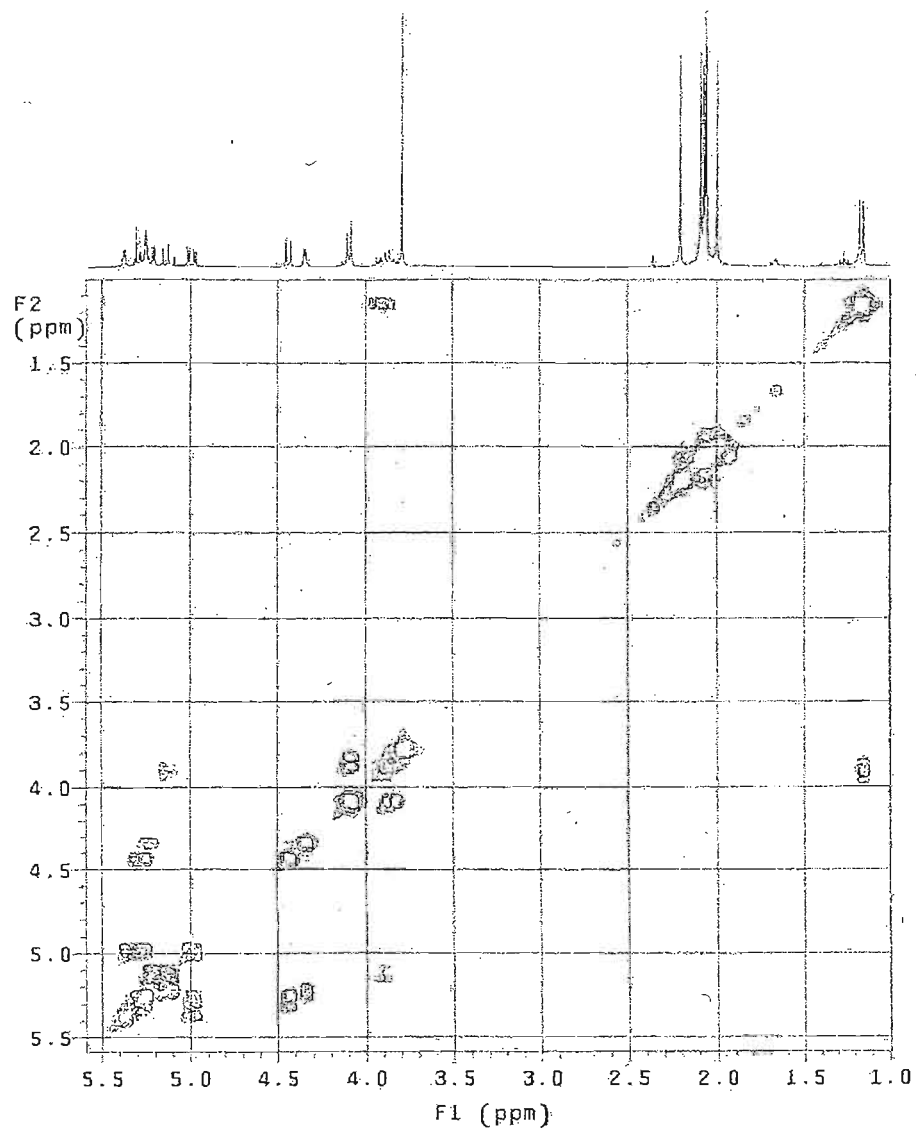


Spectres RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C du composé 67

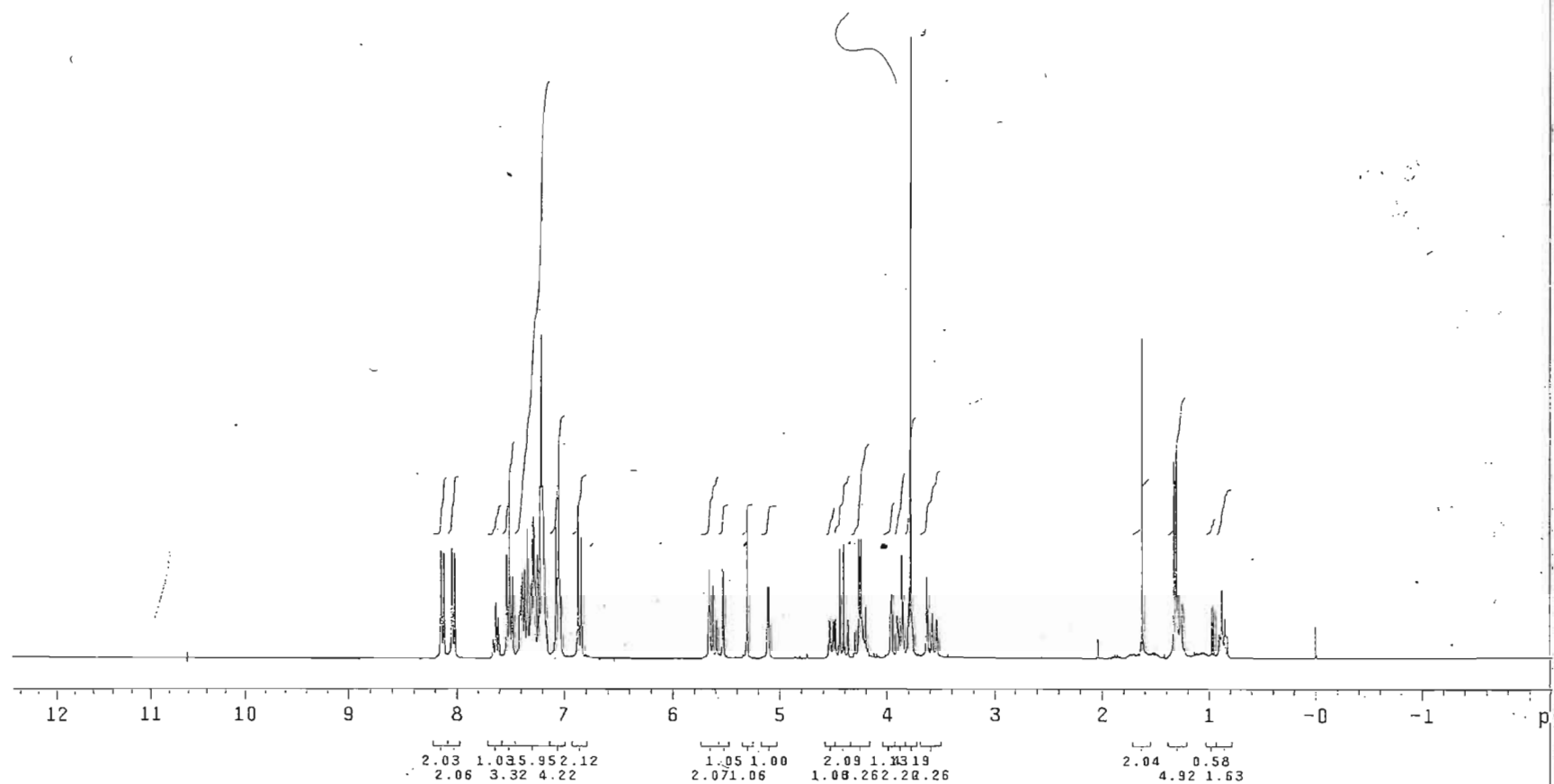
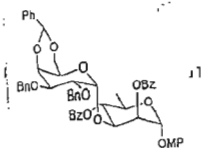
5027 - cpcl3

exp5 relayh

```
SAMPLE
date Jun 26 2006 dfrq 300.069
solvent CDCl3 dn H1
file /export/home/~ dpwr 30
regis/FR142_P2-COS- dof 0
y.fid dm hnn
ACQUISITION
sfrq 300.068 dmm c
dmr 200
tn H1
at 0.179 sb 0.089
np 1024 sbs not used
sw 2863.2 wtfile
fb 1600 proc ft
bs 16 fn 1024
ss 2
tpwr 60 werr
pw 14.8 wexp wft
pl 14.8 wbs wft
dl 1.000 wnt
tof -440.9 2D PROCESSING
nt 4 sbl 0.045
ct 4 sbs1 not used
tau 0 wtfile1
relay 0 procl ft
alock n fnl 1024
gain 20
FLAGS
tl n
fn n
dp y
2D ACQUISITION
sw1 2863.2
n1 256
phase 0
DISPLAY
sp 303.5
wp 1372.8
vs 180
sc 1p
wc 116
hzmm 11.86
is 4191.92
rf1 368.8
rfp 0
th 2
ins 2.000
ei cdc_av
2D DISPLAY
sp1 297.9
wp1 1378.4
sc2 0
wc2 116
rf11 368.8
rfp1 0
```

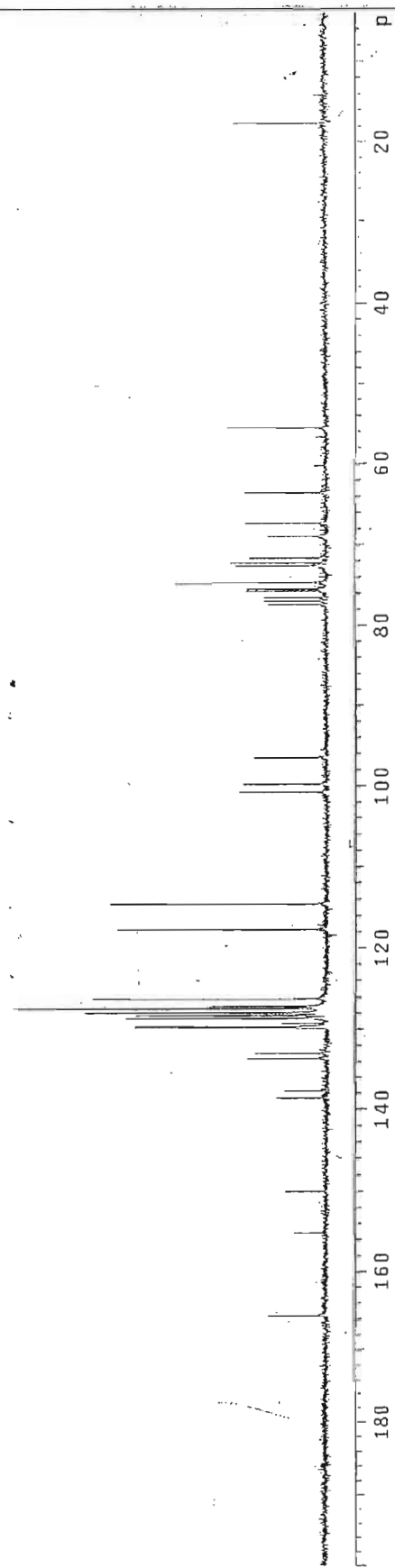
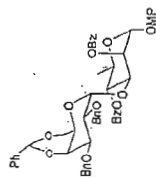


Spectre COSY du composé 67



VII

Spectre RMN <sup>1</sup>H du composé 68



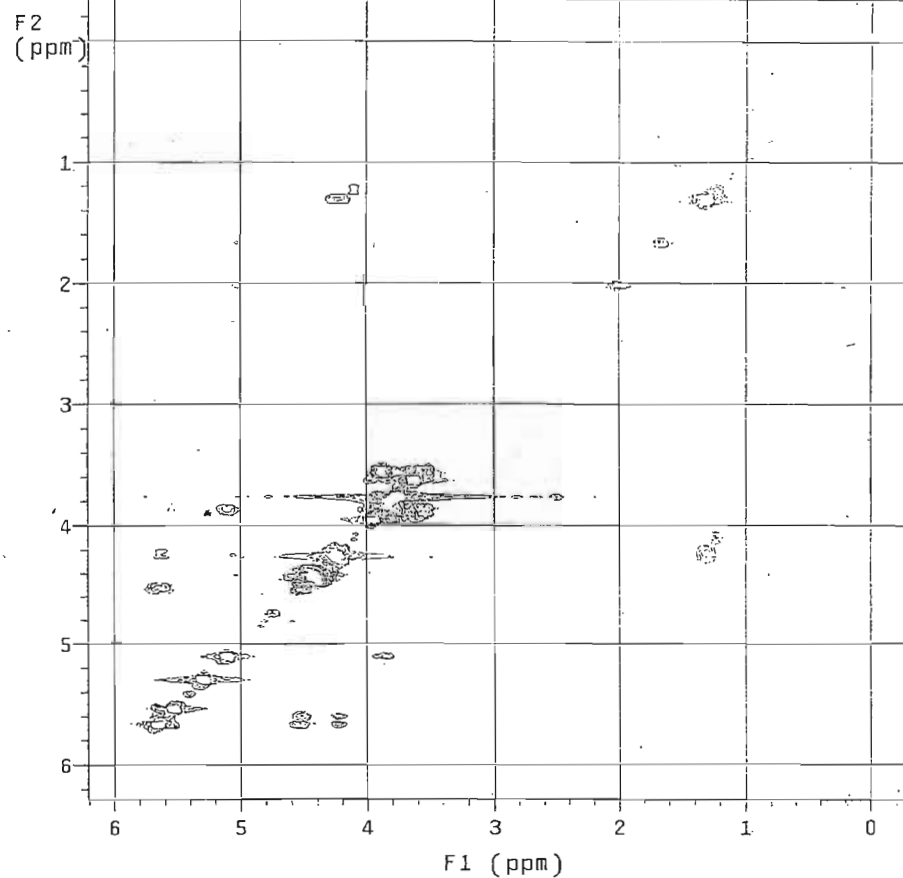
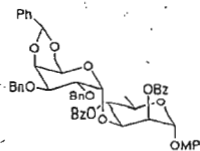
Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  du composé **68**



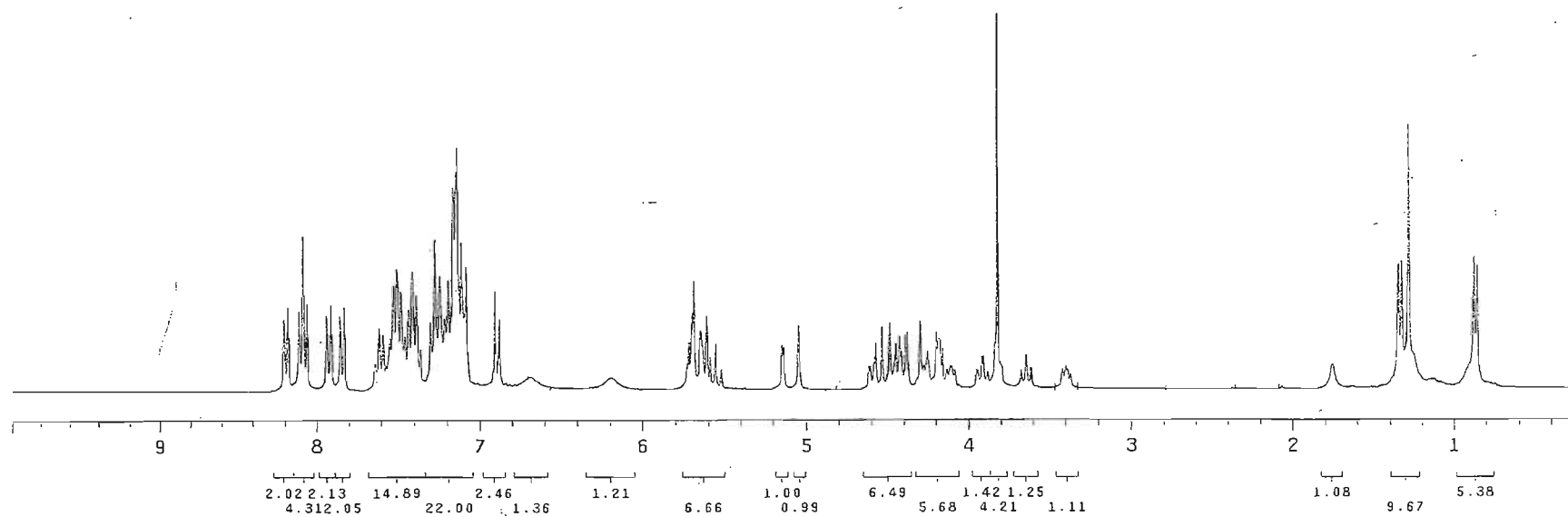
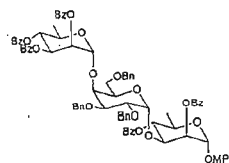
JC22 - CDC13

exp5 relayh

SAMPLE DEC. & VT  
date Jun 12 2008 dfrq 300.069  
solvent CDC13 dn H1  
file /export/home/~ dpwr 30  
sonia/JC22-CDSY.fj~ dof 0  
d dm nnn  
ACQUISITION dmm C  
sfrq 300.069 dmf 200  
tn H1  
at 0.158 sb 0.079  
np 1024 sbs not used  
sw 3241.2 wtfile  
fb 1800 proc ft  
bs 16 fn 1024  
ss 2  
tpwr 60 werr  
pw 13.0 wexp wft  
pl 13.0 wbs  
d1 1.000 wnt  
tof 19.8 2D PROCESSING  
nt 4 sbl 0.039  
ct 4 sbs1 not used  
tau 0 wtfile1  
relay 0 procl ft  
alock n fnl 1024  
gain 8  
FLAGS  
il n  
in n  
dp y  
2D ACQUISITION  
sw1 3241.2  
ni 256  
phase 0  
DISPLAY  
sp -104.0  
wp 1985.3  
vs 100  
sc 10  
wc 116  
hzmm 17.15  
is 500.00  
rfl 110.3  
rfp 0  
th 2  
ins 100.000  
a1 cdc av  
2D DISPLAY  
sp1 -104.0  
wp1 1966.3  
sc2 0  
wc2 116  
rfl1 110.3  
rfp1 0



Spectre COSY du composé 68



X

Spectre RMN <sup>1</sup>H du composé 70

## STANDARD 1H OBSERVE

exp6 relayh

SAMPLE DEC. & VT  
 date Jul 31 2008 dfrq 300.069  
 solvent CDCl3 dn H1  
 file /export/home/~ dpwr 30  
 sonia/S0137-COSY.f~ dof 0

ACQUISITION  
 sfrq 300.069 dm nnn  
 tn H1 dmm c  
 at 0.249 sb 0.124  
 np 2048 sbs not used  
 sw 4118.8 wtfile  
 fb 2400 proc ft  
 bs 16 fn 2048

SS 2  
 tpwr 60 werr  
 pw 13.0 wexp wft  
 pl 13.0 wbs  
 dl 1.000 wnt  
 tof 25.5 2D PROCESSING  
 nt 4 sbl 0.062  
 ct 4 sbsl not used  
 tau 0 wtfile1  
 relay 0 procl ft  
 alock n fnl 2048  
 gain 15

FLAGS  
 il n  
 in n  
 dp y

2D ACQUISITION  
 sw1 4118.8  
 ni 512  
 phase 0

DISPLAY  
 sp 62.4  
 wp 1928.5  
 vs 50  
 sc 10  
 wc 116  
 hzmm 16.66  
 is 500.00  
 rfl 529.4  
 rfp 0  
 th 2  
 ins 100.000

ai cdc av  
 2D DISPLAY  
 sp1 106.7  
 wp1 1884.2  
 sc2 0  
 wc2 116  
 rfl1 529.4  
 rfp1 0

